

Substituted sheets of October 7, 199958

of expressing functional lipases or esterases in host organisms with a sufficiently high activity yield. However, this is indispensable to a high-performance screening system since too low enzyme activities are difficult to detect in the determination of enantioselectivity due to the limited sensitivity of a test system.

Object of the invention:

Therefore, it has been the object of the present invention to provide a simple process for the preparation of mutated hydrolases, especially lipases or esterases, having improved stereo- or regioselectivity, catalytic activity and stability towards particular substrates (e.g., carboxylic acids, alcohols, amines, or their derivatives), which process additionally enables a rapid identification of positive mutants from extensive mutant libraries, and the use of the enzymes thus prepared in the optical resolution of chiral alcohols, acids and amines, and their derivatives.

Description of the invention:

The present invention relates to

(1) a process for the preparation and identification of hydrolase mutants having improved properties with respect to stereo- or regioselectivity, catalytic activity or stability, characterized in that

a) a starting hydrolase gene is mutagenized by a modified polymerase chain reaction (PCR), wherein the mutation rate and total number of mutations in the amplified DNA is adjusted by adjusting the concentrations of Mg^{2+} , Mn^{2+} and of the deoxynucleotides and by adjusting the number of cycles; and/or

b) one or more starting hydrolase genes, one or more hydrolase genes mutated according to step a), or mixtures of one or more starting hydrolase genes and one or more hydrolase genes mutated according to step a) are mutagenized by enzymatically fragmenting said genes, followed by enzymatic reassembly of the fragments produced to give complete recombinant hydrolase genes;

- c) the mutated hydrolase genes obtained according to step a) or b) are transformed into a host organism; and
- d) hydrolase mutants having improved properties, expressed by transformants obtained in step c), are identified by a test method;
- (2) a hydrolase mutant obtainable by the process defined under (1);
- (3) a DNA sequence coding for the hydrolase mutant defined under (2);
- (4) a vector comprising the DNA sequence defined under (3);
- (5) a transformant comprising a DNA sequence as defined under (3) and/or a vector as defined under (4);
- (6) a process for the preparation of hydrolase mutants having improved properties, comprising culturing a transformant according to (5); and
- (7) a method for testing catalysts for stereo- or regioselectivity, wherein equal amounts of the catalyst are added to a test substrate and to the pure stereo- or regioisomers of the test substrate, provided with a chromophorous group which causes a spectrometrically determinable change of absorption or emission upon cleavage by the catalyst, in separate test vessels, and the stereo- or regioselectivity is determined from the ratio of the linear initial reaction rates obtained.

As a rule, the preparation of the new biocatalysts starts with the isolation of a lipase or esterase gene from the organism of origin. This may be any microbial, plant and animal organism which is the carrier of a lipase or esterase gene. The isolation of the gene can be effected according to the methods known from the literature (J. Sambrook, E.F. Fritsch, T. Maniatis, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989, New York). Usually, the genomic DNA is fragmented using restriction endonucleases, and the gene fragments obtained are cloned in a host organism (e.g., *E. coli*). Then, using oligonucleotides with sequence homology to a segment of the lipase or esterase gene, the gene is identified within the gene library in hybridization experiments, followed by isolation thereof.

CLAIMS:

(substituted sheet of October 7, 1999)

1. A process for the preparation and identification of hydrolase mutants having improved properties with respect to stereo- or regioselectivity, characterized in that
 - a) a starting hydrolase gene is mutagenized by a modified polymerase chain reaction (PCR), wherein the mutation rate and total number of mutations in the amplified DNA is adjusted by adjusting the concentrations of Mg^{2+} , Mn^{2+} and of the deoxynucleotides and by adjusting the number of cycles; and/or
 - b) one or more starting hydrolase genes, one or more hydrolase genes mutated according to step a), or mixtures of one or more starting hydrolase genes and one or more hydrolase genes mutated according to step a) are mutagenized by enzymatically fragmenting said genes, followed by enzymatic reassembly of the fragments produced to give complete recombinant hydrolase genes;
 - c) the mutated hydrolase genes obtained according to step a) or b) are transformed into a host organism; and
 - d) hydrolase mutants having improved properties, expressed by transformants obtained in step c), are identified by a test method.
2. The process according to claim 1, wherein an average mutation rate of 1-2 base substitutions, per one hydrolase gene to be mutagenized, is adjusted in the PCR in step a) by adjusting the concentrations of Mg^{2+} , Mn^{2+} and of the deoxynucleotides.
3. The process according to claim 1, wherein a hydrolase gene mutagenized in a PCR previously performed according to claim 1 is used as the starting hydrolase gene in step a).

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

United States Patent and Trademark
Office
(Box PCT)
Crystal Plaza 2
Washington, DC 20231
ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 04 March 1999 (04.03.99)	
International application No. PCT/EP98/04612	Applicant's or agent's file reference 981391wo
International filing date (day/month/year) 23 July 1998 (23.07.98)	Priority date (day/month/year) 25 July 1997 (25.07.97)
Applicant REETZ, Manfred, T. et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:



in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

22 January 1999 (22.01.99)



in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was

was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

<p>The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland</p> <p>Facsimile No.: (41-22) 740.14.35</p>	<p>Authorized officer</p> <p>Lazar Joseph Panakal</p> <p>Telephone No.: (41-22) 338.83.38</p>
--	---

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION RELATING TO PRIORITY CLAIM

(PCT Rules 26bis.1 and 26bis.2 and
Administrative Instructions, Sections 402 and 409)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

VON KREISLER, Alek
Deichmannhaus am Hauptbahnhof
Bahnhofsvorplatz
D-50667 Köln
ALLEMAGNE

Date of mailing (day/month/year) 21 September 1998 (21.09.98)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference 981391wo	
International application No. PCT/EP98/04612	International filing date (day/month/year) 23 July 1998 (23.07.98)
Applicant STUDIENGESELLSCHAFT KOHLE MBH et al	

The applicant is hereby **notified** of the following in respect of the priority claim(s) made in the international application.

1. ☒ **Correction of priority claim.** In accordance with the applicant's notice received on: 24 August 1998 (24.08.98), the following priority claim has been corrected to read as follows:
DE 25 July 1997 (25.07.97) 197 31 990.4
☐ even though the indication of the number of the earlier application is missing.
☐ even though the following indication in the priority claim is not the same as the corresponding indication appearing in the priority document:
2. ☐ **Addition of priority claim.** In accordance with the applicant's notice received on: , the following priority claim has been added:
☐ even though the indication of the number of the earlier application is missing.
☐ even though the following indication in the priority claim is not the same as the corresponding indication appearing in the priority document:
3. ☒ As a **result of the correction and/or addition** of (a) priority claim(s) under items 1 and/or 2, the (earliest) priority date is:
25 July 1997 (25.07.97)
4. ☐ **Priority claim considered not to have been made.**
☐ The applicant failed to respond to the Invitation under Rule 26bis.2(a) (Form PCT/IB/316) within the prescribed time limit.
☐ The applicant's notice was received after the expiration of the prescribed time limit under Rule 26bis.1(a).
☐ The applicant's notice failed to correct the priority claim so as to comply with the requirements of Rule 4.10.
 The applicant may, before the technical preparations for international publication have been completed and subject to the payment of a fee, request the International Bureau to publish, together with the international application, information concerning the priority claim. See Rule 26bis.2(c) and the PCT Applicant's Guide, Volume I, Annex B2(IB).
5. ☐ In case where **multiple priorities** have been claimed, the above item(s) relate to the following priority claim(s):
6. A copy of this notification has been sent to the receiving Office and
☒ to the International Searching Authority (where the international search report has not yet been issued).
☒ the designated Offices (which have already been notified of the receipt of the record copy).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Authorized officer Yolaine CUSSAC Telephone No. (41-22) 338.83.38
--	---

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

Absender: MIT DER INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN
PRÜFUNG BEAUFTRAGTE BEHÖRDE

An:

Von Kreisler, Alek
VON KREISLER, SELTING & WERNER
Bahnhofsvorplatz 1 (Deichmannhaus)
D-50667 Köln
ALLEMAGNE

PCT

17. NOV. 1999

MITTEILUNG ÜBER DIE ÜBERSENDUNG
DES INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN
PRÜFUNGSBERICHTS
(Regel 71.1 PCT)

Absendedatum
(Tag/Monat/Jahr)

15. 11. 99

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts
981391wo AvK/JH/ml

WICHTIGE MITTEILUNG

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP98/04612

Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr)
23/07/1998

Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr)
25/07/1997

Anmelder

STUDIENGESELLSCHAFT KOHLE MBH et al.

1. Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß ihm die mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde hiermit den zu der internationalen Anmeldung erstellten internationalen vorläufigen Prüfungsbericht, gegebenenfalls mit den dazugehörigen Anlagen, übermittelt.
2. Eine Kopie des Berichts wird - gegebenenfalls mit den dazugehörigen Anlagen - dem Internationalen Büro zur Weiterleitung an alle ausgewählten Ämter übermittelt.
3. Auf Wunsch eines ausgewählten Amtes wird das Internationale Büro eine Übersetzung des Berichts (jedoch nicht der Anlagen) ins Englische anfertigen und diesem Amt übermitteln.

4. ERINNERUNG

Zum Eintritt in die nationale Phase hat der Anmelder vor jedem ausgewählten Amt innerhalb von 30 Monaten ab dem Prioritätsdatum (oder in manchen Ämtern noch später) bestimmte Handlungen (Einreichung von Übersetzungen und Entrichtung nationaler Gebühren) vorzunehmen (Artikel 39 (1)) (siehe auch die durch das Internationale Büro im Formblatt PCT/IB/301 übermittelte Information).

Ist einem ausgewählten Amt eine Übersetzung der internationalen Anmeldung zu übermitteln, so muß diese Übersetzung auch Übersetzungen aller Anlagen zum internationalen vorläufigen Prüfungsbericht enthalten. Es ist Aufgabe des Anmelders, solche Übersetzungen anzufertigen und den betroffenen ausgewählten Ämtern direkt zuzuleiten.

Weitere Einzelheiten zu den maßgebenden Fristen und Erfordernissen der ausgewählten Ämter sind Band II des PCT-Leitfadens für Anmelder zu entnehmen.

Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung
beauftragten Behörde

 Europäisches Patentamt
D-80298 München
Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d
Fax: +49 89 2399 - 4465

Bevollmächtigter Bediensteter

Vullo, C

Tel. +49 89 2399-8061



36
Translation

PATENT COOPERATION TREATY

4

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 981391wo	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP98/04612	International filing date (day/month/year) 23 July 1998 (23.07.1998)	Priority date (day/month/year) 25 July 1997 (25.07.1997)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 15/55, 15/10, 9/20, 1/21, C12Q 1/44		
Applicant STUDIENGESELLSCHAFT KOHLE MBH		

<p>1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.</p> <p>2. This REPORT consists of a total of <u>5</u> sheets, including this cover sheet.</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).</p> <p>These annexes consist of a total of <u>3</u> sheets.</p>
<p>3. This report contains indications relating to the following items:</p> <p>I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report</p> <p>II <input type="checkbox"/> Priority</p> <p>III <input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</p> <p>IV <input checked="" type="checkbox"/> Lack of unity of invention</p> <p>V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement</p> <p>VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited</p> <p>VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application</p> <p>VIII <input type="checkbox"/> Certain observations on the international application</p>

Date of submission of the demand 22 January 1999 (22.01.1999)	Date of completion of this report 15 November 1999 (15.11.1999)
Name and mailing address of the IPEA/EP European Patent Office D-80298 Munich, Germany Facsimile No. 49-89-2399-4465	Authorized officer Telephone No. 49-89-2399-0

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP98/04612

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.*):

- ☐ the international application as originally filed.
- ☒ the description, pages 1-3, 5-57, as originally filed,
 pages _____, filed with the demand,
 pages 4, 4a, filed with the letter of 07 October 1999 (07.10.1999),
 pages _____, filed with the letter of _____.
- ☒ the claims, Nos. 4-35, as originally filed,
 Nos. _____, as amended under Article 19,
 Nos. _____, filed with the demand,
 Nos. 1-3, filed with the letter of 07 October 1999 (07.10.1999),
 Nos. _____, filed with the letter of _____.
- ☒ the drawings, sheets/fig 1, 2, as originally filed,
 sheets/fig _____, filed with the demand,
 sheets/fig _____, filed with the letter of _____,
 sheets/fig _____, filed with the letter of _____.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP98/04612

IV. Lack of unity of invention

1. In response to the invitation to restrict or pay additional fees the applicant has:

- ☐ restricted the claims.
- ☐ paid additional fees.
- ☐ paid additional fees under protest.
- ☒ neither restricted nor paid additional fees.

2. ☐ This Authority found that the requirement of unity of invention is not complied with and chose, according to Rule 68.1, not to invite the applicant to restrict or pay additional fees.

3. This Authority considers that the requirement of unity of invention in accordance with Rules 13.1, 13.2 and 13.3 is

- ☐ complied with.
- ☒ not complied with for the following reasons:

See Supplemental Box

4. Consequently, the following parts of the international application were the subject of international preliminary examination in establishing this report:

- ☐ all parts.
- ☒ the parts relating to claims Nos. 1-3, 11-34

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP 98/04612

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-3, 11-22, 27-34	YES
	Claims	23-26	NO
Inventive step (IS)	Claims	27-34	YES
	Claims	1-3, 11-22	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-3, 11-34	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

SEE SUPPLEMENTAL SHEET

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP 98/04612

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: BOX IV, point 3, and BOX V

The group of claims selected by the applicants in response to Form 405 comprises Claim 1, directed to the production of hydrolase mutants displaying improved stereoselective and regioselective properties.

Claim 1 itself contains two alternatives in the first step of the process, namely step (a) **or** (b).

The further Claims 2 and 3 concern embodiments of step (a), Claims 4-10 embodiments of step (b) and Claims 13-22 embodiments of the final step (d).

Claims 23-26, finally, are directed to indeterminate mutants and Claims 27-34 to specific mutants and the DNA which codes for them.

Strictly speaking, therefore, the two different embodiments of Claim 1 give rise to further objections for lack of unity of invention. However, since step (b) is only an optional embodiment without any limiting effect on the scope of protection, this variant (and consequently also Claims 4-10) is not considered in this report.

The following objections apply to the remaining claims.

Claim 1, variant (a), concerns a simple analogous process to the mutation of genes of any type, followed by the selection of a desired property of the corresponding expression product, such as is generally described, for example, in D1 (PCR Methods and Applications, Vol. 2

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP 98/04612

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: BOX IV, point 3, and BOX V

(1992), pages 28-33) or D1 (Journal of Biochemistry, (1996), 120(5)915-921), even for hydrolases (lipases).

The selection of the starting product (hydrolase) and/or the desired effect (stereoselectivity) cannot in themselves substantiate an inventive step with respect to the general process.

The same applies to the steps defined in Claims 13-22, which only describe known test criteria for the selection of desired properties that would be applied by a person skilled in the art depending on the desired property.

Should the applicants be of the opinion that the **selection** of particular reaction conditions or particular steps in the selection process involves an inventive step, they should note that this cannot be derived directly from the wording of the claims, especially the independent claims.

The hydrolase mutants described in Claims 23-26 are totally undefined, in the absence of a precisely defined starting product, and hence indistinguishable from any x hydrolase (since the terms "improved" and "mutated" have a meaning only in relation to a starting product).

In contrast, an inventive step can be recognised in the **specific** hydrolases as per Claim 27 and 28 because of their improved properties (in relation to the defined starting product).

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP 98/04612

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: BOX IV, point 3, and BOX V

Unity of invention also appears to be established, since all the mutants (with the exception of the mutants expressed by the transformant P4BSF 03-G10) have a common mutated position.

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

REC'D 18 NOV 1999

WIPO PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 981391wo AvK/JH/ml	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsbericht (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP98/04612	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 23/07/1998	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 25/07/1997
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12N15/55		
Anmelder STUDIENGESELLSCHAFT KOHLE MBH et al.		



- Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationale vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
- Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 5 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.

☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

 Diese Anlagen umfassen insgesamt 3 Blätter.

- Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☒ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderische Tätigkeit und der gewerbliche Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☐ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 22/01/1999	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 15. 11. 99
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Grosskopf, R Tel. Nr. +49 89 2399 8714 

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP98/04612

I. Grundlage des Berichts

1. Dieser Bericht wurde erstellt auf der Grundlage (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten.*):

Beschreibung, Seiten:

1-3,5-57 ursprüngliche Fassung

4,4a eingegangen am 09/10/1999 mit Schreiben vom 07/10/1999

Patentansprüche, Nr.:

4-35 ursprüngliche Fassung

1-3 eingegangen am 09/10/1999 mit Schreiben vom 07/10/1999

Zeichnungen, Blätter:

1,2 ursprüngliche Fassung

2. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung, Seiten:
- ☐ Ansprüche, Nr.:
- ☐ Zeichnungen, Blatt:

3. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)):

4. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

IV. Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung

1. Auf die Aufforderung zur Einschränkung der Ansprüche oder zur Zahlung zusätzlicher Gebühren hat der Anmelder:

- ☐ die Ansprüche eingeschränkt.
- ☐ zusätzliche Gebühren entrichtet.

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP98/04612

- ☐ zusätzliche Gebühren unter Widerspruch entrichtet.
- ☒ weder die Ansprüche eingeschränkt noch zusätzliche Gebühren entrichtet.
2. ☐ Die Behörde hat festgestellt, daß das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung nicht erfüllt ist, und hat gemäß Regel 68.1 beschlossen, den Anmelder nicht zur Einschränkung der Ansprüche oder zur Zahlung zusätzlicher Gebühren aufzufordern.
3. Die Behörde ist der Auffassung, daß das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung nach den Regeln 13.1, 13.2 und 13.3
- ☐ erfüllt ist
- ☒ aus folgenden Gründen nicht erfüllt ist:
siehe Beiblatt
4. Daher wurde zur Erstellung dieses Berichts eine internationale vorläufige Prüfung für folgende Teile der internationalen Anmeldung durchgeführt:
- ☐ alle Teile.
- ☒ die Teile, die sich auf die Ansprüche Nr. 1-3, 11-34 beziehen.

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1-3, 11-22, 27-34
	Nein: Ansprüche	23-26
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	27-34
	Nein: Ansprüche	1-3, 11-22
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-3, 11-34
	Nein: Ansprüche	

2. Unterlagen und Erklärungen

siehe Beiblatt

Zu Punkt IV und V:

Die Gruppe der Ansprüche, die in Erwiderung auf den 405 von der Anmelderin gewählt wurde, umfaßt den Anspruch 1, der sich auf die Herstellung von Hydrolase-Mutanten richtet, die verbesserte Eigenschaften hinsichtlich Stereo- oder Regioselektivität zeigen.

Anspruch 1 selbst beinhaltet wiederum zwei Alternativen im ersten Schritt des Verfahrens, nämlich Schritt (a) **oder** (b).

Die weiteren Ansprüche 2 und 3 beinhalten Ausführungsformen des Schrittes (a), die Ansprüche 4 bis 10 Ausführungsformen des Schrittes (b) und die Ansprüche 13 bis 22 Ausführungsformen des abschließenden Schrittes (d).

Ansprüche 23 bis 26 schließlich richten sich auf unbestimmte Mutanten und Ansprüche 27 bis 34 auf spezifische Mutanten bzw. die dafür codierende DNA.

Streng genommen geben also die beiden verschiedenen Ausführungsformen des Anspruchs 1 Anlaß zu weiteren Beanstandungen mangelnder Einheitlichkeit.

Da es sich bei dem Schritt (b) aber nur um eine fakultative Ausführungsform handelt, die keine einschränkende Auswirkung auf den Schutzzumfang hat, wird diese Variante (und konsequenterweise auch die Ansprüche 4 bis 10) in dieser Stellungnahme nicht berücksichtigt.

Bezüglich der verbleibenden Ansprüche gelten die folgenden Einwände.

Anspruch 1, Variante (a) stellt ein einfaches Analogverfahren zur Mutation von beliebigen Genen gefolgt von der Selektion auf eine gewünschte Eigenschaft des entsprechenden Expressionsproduktes dar, wie es z.B. allgemein in D1 (PCR Methods and Applications, Bd. 2 (1992), Seiten 28-33) oder in D2 (Journal of Biochemistry, (1996), 120(5) 915-921) sogar für Hydrolasen (Lipasen) beschrieben ist.

Allein die Auswahl des Ausgangsproduktes (Hydrolase) und/oder des gewünschten Effektes (Stereo- oder Regioselektivität) können gegenüber der allgemeinen Methode keine erfinderische Tätigkeit substantiieren.

Das gleiche gilt für die in den Ansprüchen 13 bis 22 aufgeführten Schritte, die nur bekannte Testkriterien zur Selektion gewünschter Eigenschaft beschreiben und vom Fachmann in Abhängigkeit dieser gewünschten Eigenschaft in Anwendung

gebracht würden.

Sollte die Anmelderin der Ansicht sein, daß eine erfinderische Tätigkeit in der **Auswahl** bestimmter Reaktionsbedingungen oder bestimmter Schritte im Selektionsverfahren liegt, so ist anzumerken, daß diese nicht unmittelbar dem Anspruchswortlaut und insbesondere nicht den unabhängigen Ansprüchen zu entnehmen ist.

Die in den Ansprüchen 23 bis 26 beschriebenen Hydrolase-Mutanten sind, in Abwesenheit des präzise definierten Ausgangsproduktes völlig undefiniert und somit nicht unterscheidbar von jeder x-beliebigen Hydrolase (da sowohl die Begriffe "verbessert" als auch "mutiert" nur in Relation zu einem Ausgangsprodukt einen Sinn ergeben).

Dagegen kann in Bezug auf die **spezifischen** Hydrolasen gemäß Anspruch 27 und 28 auf Grund der verbesserten Eigenschaften (in Bezug auf das definierte Ausgangsprodukt) eine erfinderische Tätigkeit anerkannt werden.

Die Einheitlichkeit scheint ebenfalls gegeben, da (mit Ausnahme der von der Transformanten P4BSF 03-G10 exprimierten Mutante) alle Mutanten eine gemeinsam mutierte Position aufweisen.

Ausbeute zu exprimieren. Dies ist jedoch für ein leistungsfähiges Screeningsystem unverzichtbar, da zu geringe Enzym-Aktivitäten bei der Bestimmung der Enantioselektivität aufgrund der begrenzten Empfindlichkeit eines Testsystems nur schwer nachzuweisen sind.

Gegenstand der Erfindung:

Der Erfindung lag daher die Aufgabe zugrunde, ein einfaches Verfahren zur Herstellung von mutierten Hydrolasen, insbesondere Lipasen bzw. Esterasen, mit verbesserter Stereo-, bzw. Regioselektivität, katalytischer Aktivität und Stabilität gegenüber gegebenen Substraten (z.B. Carbonsäuren, Alkoholen, Aminen sowie deren Derivaten) zu entwickeln, das zudem eine schnelle Identifizierung positiver Mutanten aus umfangreichen Mutantenbibliotheken ermöglicht, sowie die Verwendung der so hergestellten Enzyme bei der Racematspaltung von chiralen Alkoholen, Säuren und Aminen sowie deren Derivaten.

Beschreibung der Erfindung:

Die vorliegende Erfindung betrifft

(1) ein Verfahren zur Herstellung und Identifizierung von Hydrolase-Mutanten mit verbesserten Eigenschaften hinsichtlich Stereo- oder Regioselektivität, katalytischer Aktivität oder Stabilität, dadurch gekennzeichnet, daß

- a) ein Ausgangs-Hydrolasegen mittels einer modifizierten Polymerase-Kettenreaktion (PCR) mutagenisiert wird, wobei durch Einstellen der Mg^{2+} -, Mn^{2+} - und der Desoxynucleotid-Konzentrationen sowie der Einstellung der Zyklenanzahl die Mutationsfrequenz und Gesamtanzahl der Mutationen in der amplifizierten DNA eingestellt wird und/oder
- b) ein oder mehrere Ausgangs-Hydrolasegene, ein oder mehrere gemäß Schritt a) mutierte Hydrolasegene oder Gemische von einem oder mehreren Ausgangs-Hydrolasegenen und einem oder mehreren gemäß Schritt a) mutierten Hydrolasegenen durch enzymatische Fragmentierung dieser Gene und nachfolgender enzymatischer Reassemblierung der entstandenen Fragmente zu vollständig rekombinierten Hydrolasegenen mutagenisiert werden,

- c) die gemäß Schritt a) oder b) erhaltenen mutierten Hydrolasegene in einen Wirtsorganismus transformiert werden und
- d) Hydrolase-Mutanten mit verbesserten Eigenschaften, die von in Schritt c) erhaltenen Transformanten exprimiert werden, durch ein Testverfahren identifiziert werden;
- (2) eine Hydrolasemutante erhältlich aus durch das unter (1) definierte Verfahren;
- (3) eine DNA-Sequenz, die für die unter (2) definierte Hydrolasemutante kodiert;
- (4) ein Vektor, umfassend die unter (3) definierte DNA-Sequenz;
- (5) eine Transformante, umfassend eine DNA-Sequenz, wie unter (3) definiert und/oder einen Vektor, wie unter (4) definiert;
- (6) ein Verfahren zur Herstellung von Hydrolasemutanten mit verbesserten Eigenschaften, umfassend das Kultivieren einer Transformanten gemäß (5); und
- (7) ein Verfahren zum Test von Katalysatoren auf Stereo- oder Regioselektivität, wobei ein Testsubstrat und die reinen Stereo- oder Regioisomeren des Testsubstrates, die mit einer chromophoren Gruppe versehen sind, die nach der Abspaltung durch den Katalysator eine spektrometrisch bestimmbare Änderung der Absorption oder Emission hervorruft, in getrennten Testgefäßen mit gleichen Mengen des Katalysators versetzt werden und die Stereo- oder Regioselektivität aus dem Verhältnis der erhaltenen linearen Anfangsgeschwindigkeiten der Reaktionen bestimmt wird.

Die Herstellung der neuen Biokatalysatoren beginnt in der Regel mit der Isolierung eines Lipase- bzw. Esterase-Gens aus dem Ursprungsorganismus. Hierfür kommen alle mikrobiellen, pflanzlichen und tierischen Organismen in Frage, die Träger eines Lipase- bzw. Esterase-Gens sind. Die Genisolierung kann nach den literaturbekannten Methoden vorgenommen werden (J. Sambrook, E.F. Fritsch, T. Maniatis, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989, New York). In der Regel wird dazu die genomische DNA mit Hilfe von Restriktionsendonucleasen fragmentiert und die erhaltenen Genfragmente in einem Wirtsorganismus (z.B. *E. coli*) kloniert. Unter Verwendung von Oligonucleotiden, die sequenzhomolog zu einem Abschnitt des Lipase- bzw. Esterase-Gens sind, wird dann in Hybridisierungsexperimenten das Gen in der Genbank identifiziert und nachfolgend isoliert.

Patentansprüche:

1. Verfahren zur Herstellung und Identifizierung von Hydrolase-Mutanten mit verbesserten Eigenschaften hinsichtlich Stereo- oder Regioselektivität, dadurch gekennzeichnet, daß

- a) ein Ausgangs-Hydrolasegen mittels einer modifizierten Polymerase-Kettenreaktion (PCR) mutagenisiert wird, wobei durch Einstellen der Mg^{2+} -, Mn^{2+} - und der Desoxynucleotid-Konzentrationen sowie der Einstellung der Zyklenanzahl die Mutationsfrequenz und Gesamtanzahl der Mutationen in der amplifizierten DNA eingestellt wird und/oder
- b) ein oder mehrere Ausgangs-Hydrolasegene, ein oder mehrere gemäß Schritt a) mutierte Hydrolasegene oder Gemische von einem oder mehreren Ausgangs-Hydrolasegenen und einem oder mehreren gemäß Schritt a) mutierten Hydrolasegenen durch enzymatische Fragmentierung dieser Gene und nachfolgender enzymatischer Reassemblierung der entstandenen Fragmente zu vollständig rekombinierten Hydrolasegenen mutagenisiert werden,
- c) die gemäß Schritt a) oder b) erhaltenen mutierten Hydrolasegene in einen Wirtsorganismus transformiert werden und
- d) Hydrolase-Mutanten mit verbesserten Eigenschaften, die von in Schritt c) erhaltenen Transformanten exprimiert werden, durch ein Testverfahren identifiziert werden.

2. Verfahren gemäß Anspruch 1, wobei in Schritt a) bei der PCR durch Einstellen der Mg^{2+} -, Mn^{2+} - und der Desoxynucleotid-Konzentration eine durchschnittliche Mutationsfrequenz von 1-2 Basenaustauschen bezogen auf das zu mutagenisierende Hydrolasegen eingestellt wird.

3. Verfahren gemäß Anspruch 1, wobei in Schritt a) als Ausgangs-Hydrolasegen ein in einer zuvor gemäß Anspruch 1 durchgeführten PCR mutagenisiertes Hydrolasegen eingesetzt wird.

Kopie

PCT

ANTRAG

Der Unterzeichnete beantragt, daß die vorliegende internationale Anmeldung nach dem Vertrag über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens behandelt wird.

Vom Anmeldeamt auszufüllen

Internationales Aktenzeichen

Internationales Anmeldedatum

Name des Anmeldeamts und "PCT International Application"

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts (falls gewünscht)
(max. 12 Zeichen) 981391wo AvK/JH/rh

Feld Nr. I BEZEICHNUNG DER ERFINDUNG
Verfahren zur Herstellung und Identifizierung von neuen Hydrolasen mit verbesserten Eigenschaften

Feld Nr. II ANMELDER

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Studiengesellschaft Kohle mbH
Kaiser-Wilhelm-Platz 1
45470 Mülheim / Ruhr
DE

☐ Diese Person ist gleichzeitig Erfinder

Telefonnr.:

Telefaxnr.:

Fernschreibnr.:

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten

☒ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☐ nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

REETZ, Manfred T.
Kaiser-Wilhelm-Platz 1
45470 Mülheim / Ruhr
DE

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder

☒ Anmelder und Erfinder

☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten

☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☒ nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

☒ Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem Fortsetzungsblatt angegeben.

Feld Nr. IV ANWALT ODER GEMEINSAMER VERTRETER; ZUSTELLANSCHRIFT

Die folgende Person wird hiermit bestellt/ist bestellt worden, um für den (die) Anmelder vor den zuständigen internationalen Behörden in folgender Eigenschaft zu handeln als:

☒ Anwalt

☐ gemeinsamer Vertreter

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)

VON KREISLER, Alek
Deichmannhaus am Hauptbahnhof
Bahnhofsvorplatz
50667 KÖLN
DE

Telefonnr.:

0221-91 65 20

Telefaxnr.:

0221-13 42 97

Fernschreibnr.:

☐ Dieses Kästchen ist anzukreuzen, wenn kein Anwalt oder gemeinsamer Vertreter bestellt ist und statt dessen im obigen Feld eine spezielle Zustellanschrift angegeben ist.

Fortsetzung von Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER	
<i>Wird keines der folgenden Felder benutzt, so ist dieses Blatt dem Antrag nicht beizufügen.</i>	
<p>Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)</p> <p>ZONTA, Albin Kaiser-Wilhelm-Platz 1 45470 Mülheim / Ruhr DE</p>	<p>Diese Person ist:</p> <p><input type="checkbox"/> nur Anmelder</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Anmelder und Erfinder</p> <p><input type="checkbox"/> nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)</p>
Staatsangehörigkeit (Staat): DE	Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE
<p>Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika <input checked="" type="checkbox"/> nur die Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> die im Zusatzfeld angegebenen Staaten</p>	
<p>Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)</p> <p>SCHIMOSSEK, Klaus Kaiser-Wilhelm-Platz 1 45470 Mülheim / Ruhr DE</p>	<p>Diese Person ist: —</p> <p><input type="checkbox"/> nur Anmelder</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Anmelder und Erfinder</p> <p><input type="checkbox"/> nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)</p>
Staatsangehörigkeit (Staat): DE	Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE
<p>Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika <input checked="" type="checkbox"/> nur die Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> die im Zusatzfeld angegebenen Staaten</p>	
<p>Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)</p> <p>LIEBETON, Klaus Kaiser-Wilhelm-Platz 1 45470 Mülheim / Ruhr DE</p>	<p>Diese Person ist:</p> <p><input type="checkbox"/> nur Anmelder</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Anmelder und Erfinder</p> <p><input type="checkbox"/> nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)</p>
Staatsangehörigkeit (Staat): DE	Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE
<p>Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika <input checked="" type="checkbox"/> nur die Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> die im Zusatzfeld angegebenen Staaten</p>	
<p>Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)</p> <p>JÄGER, Karl-Erich Ruhr Universität Bochum Fakultät f. Biologie Universitätsstrasse 150 44790 Bochum / DE</p>	<p>Diese Person ist:</p> <p><input type="checkbox"/> nur Anmelder</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Anmelder und Erfinder</p> <p><input type="checkbox"/> nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)</p>
Staatsangehörigkeit (Staat): DE	Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE
<p>Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika <input checked="" type="checkbox"/> nur die Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> die im Zusatzfeld angegebenen Staaten</p>	
<p><input type="checkbox"/> Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem zusätzlichen Fortsetzungsblatt angegeben.</p>	

Feld Nr. V BESTIMMUNG VON STAATEN

Die folgenden Bestimmungen nach Regel 4.9 Absatz a werden hiermit vorgenommen (bitte die entsprechenden Kästchen ankreuzen; wenigstens ein Kästchen muß angekreuzt werden):

Regionales Patent

- ☐ AP **ARIPO-Patent:** GH Ghana, GM Gambia, KE Kenia, LS Lesotho, MW Malawi, SD Sudan, SZ Swasiland, UG Uganda, ZW Simbabwe und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Harare-Protokolls und des PCT ist
- ☐ EA **Eurasisches Patent:** AM Armenien, AZ Aserbaidshan, BY Belarus, KG Kirgisistan, KZ Kasachstan, MD Republik Moldau, RU Russische Föderation, TJ Tadschikistan, TM Turkmenistan und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Eurasischen Patentübereinkommens und des PCT ist
- ☒ EP **Europäisches Patent:** AT Österreich, BE Belgien, CH und LI Schweiz und Liechtenstein, DE Deutschland, DK Dänemark, ES Spanien, FI Finnland, FR Frankreich, GB Vereinigtes Königreich, GR Griechenland, IE Irland, IT Italien, LU Luxemburg, MC Monaco, NL Niederlande, PT Portugal, SE Schweden und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Europäischen Patentübereinkommens und des PCT ist
- ☐ OA **OAPI-Patent:** BF Burkina Faso, BJ Benin, CF Zentralafrikanische Republik, CG Kongo, CI Côte d'Ivoire, CM Kamerun, GA Gabun, GN Guinea, ML Mali, MR Mauretanien, NE Niger, SN Senegal, TD Tschad, TG Togo und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat der OAPI und des PCT ist (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben)

Nationales Patent (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben):

- | | |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> AL Albanien | <input type="checkbox"/> LT Litauen |
| <input type="checkbox"/> AM Armenien | <input type="checkbox"/> LU Luxemburg |
| <input type="checkbox"/> AT Österreich | <input type="checkbox"/> LV Lettland |
| <input type="checkbox"/> AU Australien | <input type="checkbox"/> MD Republik Moldau |
| <input type="checkbox"/> AZ Aserbaidshan | <input type="checkbox"/> MG Madagaskar |
| <input type="checkbox"/> BA Bosnien-Herzegowina | <input type="checkbox"/> MK Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien |
| <input type="checkbox"/> BB Barbados | <input type="checkbox"/> MN Mongolei |
| <input type="checkbox"/> BG Bulgarien | <input type="checkbox"/> MW Malawi |
| <input type="checkbox"/> BR Brasilien | <input type="checkbox"/> MX Mexiko |
| <input type="checkbox"/> BY Belarus | <input type="checkbox"/> NO Norwegen |
| <input checked="" type="checkbox"/> CA Kanada | <input type="checkbox"/> NZ Neuseeland |
| <input type="checkbox"/> CH und LI Schweiz und Liechtenstein | <input type="checkbox"/> PL Polen |
| <input type="checkbox"/> CN China | <input type="checkbox"/> PT Portugal |
| <input type="checkbox"/> CU Kuba | <input type="checkbox"/> RO Rumänien |
| <input type="checkbox"/> CZ Tschechische Republik | <input type="checkbox"/> RU Russische Föderation |
| <input type="checkbox"/> DE Deutschland | <input type="checkbox"/> SD Sudan |
| <input type="checkbox"/> DK Dänemark | <input type="checkbox"/> SE Schweden |
| <input type="checkbox"/> EE Estland | <input type="checkbox"/> SG Singapur |
| <input type="checkbox"/> ES Spanien | <input type="checkbox"/> SI Slowenien |
| <input type="checkbox"/> FI Finnland | <input type="checkbox"/> SK Slowakei |
| <input type="checkbox"/> GB Vereinigtes Königreich | <input type="checkbox"/> SL Sierra Leone |
| <input type="checkbox"/> GE Georgien | <input type="checkbox"/> TJ Tadschikistan |
| <input type="checkbox"/> GH Ghana | <input type="checkbox"/> TM Turkmenistan |
| <input type="checkbox"/> GM Gambia | <input type="checkbox"/> TR Türkei |
| <input type="checkbox"/> GW Guinea-Bissau | <input type="checkbox"/> TT Trinidad und Tobago |
| <input type="checkbox"/> HU Ungarn | <input type="checkbox"/> UA Ukraine |
| <input type="checkbox"/> ID Indonesien | <input type="checkbox"/> UG Uganda |
| <input type="checkbox"/> IL Israel | <input checked="" type="checkbox"/> US Vereinigte Staaten von Amerika |
| <input checked="" type="checkbox"/> JP Japan | <input type="checkbox"/> UZ Usbekistan |
| <input type="checkbox"/> KE Kenia | <input type="checkbox"/> VN Vietnam |
| <input type="checkbox"/> KG Kirgisistan | <input type="checkbox"/> YU Jugoslawien |
| <input type="checkbox"/> KP Demokratische Volksrepublik Korea | <input type="checkbox"/> ZW Simbabwe |
| <input type="checkbox"/> KR Republik Korea | |
| <input type="checkbox"/> KZ Kasachstan | |
| <input type="checkbox"/> LC Saint Lucia | |
| <input type="checkbox"/> LK Sri Lanka | |
| <input type="checkbox"/> LR Liberia | |
| <input type="checkbox"/> LS Lesotho | |

Kästchen für die Bestimmung von Staaten (für die Zwecke eines nationalen Patents), die dem PCT nach der Veröffentlichung dieses Formblatts beigetreten sind:

Zusätzlich zu den oben genannten Bestimmungen nimmt der Anmelder nach Regel 4.9 Absatz b auch alle anderen nach dem PCT zulässigen Bestimmungen vor mit Ausnahme der Bestimmung von

Der Anmelder erklärt, daß diese zusätzlichen Bestimmungen unter dem Vorbehalt einer Bestätigung stehen und jede zusätzliche Bestimmung, die vor Ablauf von 15 Monaten ab dem Prioritätsdatum nicht bestätigt wurde, nach Ablauf dieser Frist als vom Anmelder zurückgenommen gilt. (Die Bestätigung einer Bestimmung erfolgt durch die Einreichung einer Mitteilung, in der diese Bestimmung angegeben wird, und die Zahlung der Bestimmungs- und der Bestätigungsgebühr. Die Bestätigung muß beim Anmeldeamt innerhalb der Frist von 15 Monaten eingehen.)

Zusatzfeld Wird dieses Zusatzfeld nicht benutzt, so ist dieses Blatt dem Antrag nicht beizufügen.

Dieses Feld ist in folgenden Fällen auszufüllen:

1. Wenn der Platz in einem Feld nicht für alle Angaben ausreicht:

In diesem Fall sind mit dem Vermerk "Fortsetzung von Feld Nr. ..." [Nummer des Feldes angeben] die gleichen Angaben zu machen wie in dem Feld vorgesehen, das platzmäßig nicht ausreicht;

insbesondere:

i) Wenn mehr als zwei Anmelder und/oder Erfinder vorhanden sind und kein Fortsetzungsblatt zur Verfügung steht:

In diesem Fall sind mit dem Vermerk "Fortsetzung von Feld Nr. III" für jede weitere Person die in Feld Nr. III vorgesehenen Angaben zu machen.

ii) Wenn in Feld Nr. II oder III die Angabe "die im Zusatzfeld angegebenen Staaten" angekreuzt ist:

In diesem Fall sind mit dem Vermerk "Fortsetzung von Feld Nr. II", "Fortsetzung von Feld Nr. III" oder "Fortsetzung von Feld Nr. II und Nr. III" die Namen der Anmelder und neben jedem Namen der Staat oder die Staaten (und/oder ggf. ARIPO-, eurasisches, europäisches oder OAPI-Patent) anzugeben, für die die bezeichnete Person Anmelder ist.

iii) Wenn der in Feld Nr. II oder III genannte Erfinder oder Erfinder/Anmelder nicht für alle Bestimmungsstaaten oder für die Vereinigten Staaten von Amerika als Erfinder benannt ist:

In diesem Fall sind mit dem Vermerk "Fortsetzung von Feld Nr. II" oder "Fortsetzung von Feld Nr. III" oder "Fortsetzung von Feld Nr. II und Nr. III" der Name des Erfinders und neben jedem Namen der Staat oder die Staaten (und/oder ggf. ARIPO-, eurasisches, europäisches oder OAPI-Patent) anzugeben, für die die bezeichnete Person Erfinder ist.

iv) Wenn zusätzlich zu dem Anwalt/den Anwälten, die in Feld Nr. IV angegeben sind, weitere Anwälte bestellt sind:

In diesem Fall sind mit dem Vermerk "Fortsetzung von Feld Nr. IV" für jeden weiteren Anwalt die gleichen Angaben zu machen wie in Feld Nr. IV vorgesehen.

v) Wenn in Feld Nr. V bei einem Staat (oder bei OAPI) die Angabe "Zusatzpatent" oder "Zusatzzertifikat" oder wenn in Feld Nr. V bei den Vereinigten Staaten von Amerika die Angabe "Fortsetzung" oder "Teilfortsetzung" hinzugefügt wird:

In diesem Fall sind mit dem Vermerk "Fortsetzung von Feld Nr. V" die Namen der betreffenden Staaten (oder OAPI) und nach dem Namen jeder dieser Staaten (oder OAPI) das Aktenzeichen des Hauptschutzrechts oder der Hauptschutzrechtsanmeldung und das Datum der Erteilung des Hauptschutzrechts oder der Einreichung der Hauptschutzrechtsanmeldung anzugeben.

vi) Wenn die Priorität von mehr als drei früheren Anmeldungen beansprucht wird:


In diesem Fall sind mit dem Vermerk "Fortsetzung von Feld Nr. VI" für jede weitere frühere Anmeldung die gleichen Angaben zu machen wie in Feld Nr. VI vorgesehen.

2. Wenn der Anmelder für irgendein Bestimmungsamt die Vergünstigung nationaler Vorschriften betreffend unschädliche Offenbarung oder Ausnahmen von der Neuheitsschädlichkeit in Anspruch nimmt:

In diesem Fall ist mit dem Vermerk "Erklärung betreffend unschädliche Offenbarung oder Ausnahmen von der Neuheitsschädlichkeit" nachstehend diese Erklärung abzugeben.

Fortsetzung Feld Nr. IV:

SELTING, Günther
 WERNER, Hans-Karsten
 FUES, J. F.
 DALLMEYER, Georg
 HILLERINGMANN, Jochen
 JÖNSSON, Hans-Peter
 MEYERS, Hans-Wilhelm
 WEBER, Thomas
 HELBING, Jörg
 Deichmannhaus am Hauptbahnhof
 D-50667 Köln
 DE

Feld Nr. VI PRIORITÄTSANSPRUCH		Weitere Prioritätsansprüche sind im Zusatzfeld angegeben. <input type="checkbox"/>	
Die Priorität der folgenden früheren Anmeldung(en) wird hiermit beansprucht:			
Staat (Anmelde- oder Bestimmungsstaat der Anmeldung)	Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr)	Aktenzeichen	Anmeldeamt (nur bei regionaler oder internationaler Anmeldung)
(1) Deutschland	27. Juli 1997	197 31 990.4	
(2)			
(3)			
<p>Dieses Kästchen ankreuzen, wenn die beglaubigte Kopie der früheren Anmeldung von dem Amt ausgestellt werden soll, das für die Zwecke dieser internationalen Anmeldung Anmeldeamt ist (eine Gebühr kann verlangt werden):</p> <p><input type="checkbox"/> Das Anmeldeamt wird hiermit ersucht, eine beglaubigte Abschrift der oben in Zeile(n) _____ bezeichneten früheren Anmeldung(en) zu erstellen und dem Internationalen Büro zu übermitteln.</p>			
Feld Nr. VII INTERNATIONALE RECHERCHENBEHÖRDE			
<p>Wahl der Internationalen Recherchenbehörde (ISA) (Sind zwei oder mehr Internationale Recherchenbehörden für die internationale Recherche zuständig, ist der Name der Behörde anzugeben, die die internationale Recherche durchführen soll; Zweibuchstaben-Code genügt): ISA / _____</p> <p>Frühere Recherche: Auszufüllen, wenn eine Recherche (internationale Recherche, Recherche internationaler Art oder sonstige Recherche) bereits bei der internationalen Recherchenbehörde beantragt oder von ihr durchgeführt worden ist und diese Behörde nun ersucht wird, die internationale Recherche soweit wie möglich auf die Ergebnisse einer solchen früheren Recherche zu stützen. Die Recherche oder der Recherchenantrag ist durch Angabe der betreffenden Anmeldung (bzw. deren Übersetzung) oder des Recherchenantrags zu bezeichnen.</p>			
Staat (oder regionales Amt): DE	Datum (Tag/Monat/Jahr): 18.03.1998	Aktenzeichen: 197 31 990.4	
Feld Nr. VIII KONTROLLISTE			
Diese internationale Anmeldung umfaßt:		Dieser internationalen Anmeldung liegen die nachstehend angekreuzten Unterlagen bei:	
1. Antrag : 5 Blätter	2. Beschreibung : 57 Blätter	3. Ansprüche : 6 Blätter	4. Zusammenfassung : 1 Blätter
5. Zeichnungen : 13 Blätter	Insgesamt : 82 Blätter		
		1. <input type="checkbox"/> Unterzeichnete gesonderte Vollmacht	5. <input checked="" type="checkbox"/> Blatt für die Gebührenberechnung
		2. <input checked="" type="checkbox"/> Kopie der allgemeinen Vollmacht	6. <input checked="" type="checkbox"/> Gesonderte Angaben zu hinterlegten Mikroorganismen
		3. <input type="checkbox"/> Begründung für das Fehlen der Unterschrift	7. <input checked="" type="checkbox"/> Sequenzprotokolle für Nucleotide und/oder Aminosäuren (Diskette)
		4. <input type="checkbox"/> Prioritätsbeleg(e) (durch die Zeilennummer von Feld Nr. VI kennzeichnen):	8. <input checked="" type="checkbox"/> Sonstige (einzeln auflisten): früh. Recherchenbericht
Abbildung Nr. _____ der Zeichnungen (falls vorhanden) soll mit der Zusammenfassung veröffentlicht werden.			
Feld Nr. IX UNTERSCHRIFT DES ANMELDERS ODER DES ANWALTS			
Der Name jeder unterzeichnenden Person ist neben der Unterschrift zu wiederholen, und es ist anzugeben, sofern sich dies nicht eindeutig aus dem Antrag ergibt, in welcher Eigenschaft die Person unterzeichnet.			
 (Alek von Kreisler)			

Vom Anmeldeamt auszufüllen	
1. Datum des tatsächlichen Eingangs dieser internationalen Anmeldung:	2. Zeichnungen <input type="checkbox"/> eingegangen: <input type="checkbox"/> nicht eingegangen:
3. Geändertes Eingangsdatum aufgrund nachträglich, jedoch fristgerecht eingegangener Unterlagen oder Zeichnungen zur Vervollständigung dieser internationalen Anmeldung:	
4. Datum des fristgerechten Eingangs der angeforderten Richtigstellungen nach Artikel 11(2) PCT:	
5. Vom Anmelder benannte Internationale Recherchenbehörde: ISA / _____	6. <input type="checkbox"/> Übermittlung des Recherchenexemplars bis zur Zahlung der Recherchegebühr aufgeschoben

Vom Internationalen Büro auszufüllen
Datum des Eingangs des Aktenexemplars beim Internationalen Büro:

PCT

BLATT FÜR DIE GEBÜHRENBERECHNUNG Anhang zum Antrag

Von Anmeldeamt auszufüllen

Internationales Aktenzeichen

Aktenzeichen des Anmelders
oder Anwalts

981391wo AvK/JH/rh

Eingangsstempel des Anmeldeamts

Anmelder

Studiengesellschaft Kohle mbH, 45470 Mülheim / Ruhr

BERECHNUNG DER VORGESCHRIEBENEN GEBÜHREN

1. ÜBERMITTLUNGSGEBÜHR 200,-- T
2. RECHERCHENGEBÜHR 2.200,-- S

Die internationale Recherche ist durchzuführen von EPA
(Sind zwei oder mehr Internationale Recherchenbehörden für die internationale Recherche zuständig,
ist der Name der Behörde anzugeben, die die internationale Recherche durchführen soll.)

3. INTERNATIONALE GEBÜHR

Grundgebühr

Die internationale Anmeldung enthält 82 Blätter.

umfaßt die ersten 30 Blätter 800,-- b₁

52 x 19,-- = 988,-- b₂

Anzahl der Blätter
über 30 Zusatzblattgebühr

Addieren Sie die in Feld b₁ und b₂ eingetragenen
Beträge, und tragen Sie die Summe in Feld B ein 1.788,-- B

Bestimmungsgebühren

Die internationale Anmeldung enthält 4 Bestimmungen.

4 x 184,-- = 736,-- D

Anzahl der zu zahlenden

Bestimmungsgebühr

Bestimmungsgebühren (maximal 11)

Addieren Sie die in Feld B und D eingetragenen
Beträge, und tragen Sie die Summe in Feld I ein 2.524,-- I

(Anmelder aus einigen Staaten haben Anspruch auf eine Ermäßigung der internationalen Gebühr um
75%. Hat der Anmelder (oder haben alle Anmelder) einen solchen Anspruch, so beträgt der in Feld I
einzutragende Gesamtbetrag 25% der Summe der in Feld B und D eingetragenen Beträge.)

4. GEBÜHR FÜR PRIORITÄTSBELEG P

5. GESAMTBETRAG DER ZU ZAHLENDEN GEBÜHREN

Addieren Sie die in Feldern T, S, I und P eingetragenen Beträge,
und tragen Sie die Summe in das nebenstehende Feld ein 4.924,--
INSGESAMT

☐ Die Bestimmungsgebühren werden jetzt noch nicht gezahlt.

ZAHLUNGSWEISE

- ☒ Abbuchungsauftrag (siehe unten) ☐ Bankwechsel ☐ Kupons
- ☐ Scheck ☐ Barzahlung ☐ Sonstige (einzeln angeben):
- ☐ Postanweisung ☐ Gebührenmarken

ABBUCHUNGSAUFTRAG (diese Zahlungsweise gibt es nicht bei allen Anmeldeämtern)

Das Anmeldeamt/ EPA ☒ wird beauftragt, den vorstehend angegebenen Gesamtbetrag der Gebühren von meinem laufenden
Konto abzubuchen.

☐ wird beauftragt, Fehlbeträge oder Überzahlungen des vorstehend angegebenen Gesamtbetrags der
Gebühren meinem laufenden Konto zu belasten bzw. gutzuschreiben.

☐ wird beauftragt, die Gebühr für die Ausstellung des Prioritätsbelegs und seine Übermittlung an das
Internationale Büro der WIPO von meinem laufenden Konto abzubuchen.

2800 0007

Köln, 22. Juli 1998

Kontonummer

Datum (Tag/Monat/Jahr)

Unterschrift (Alek von Kreisler)

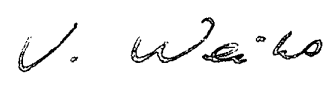
BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL
RECOGNITION OF THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS
FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE

INTERNATIONAL FORM

Studiengesellschaft
Kohle mbH
Kaiser-Wilhelm-Platz 1

45470 Mühlheim an der Ruhr

RECEIPT IN THE CASE OF AN ORIGINAL DEPOSIT
issued pursuant to Rule 7.1 by the
INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY
identified at the bottom of this page

I. IDENTIFICATION OF THE MICROORGANISM	
Identification reference given by the DEPOSITOR: PABST 7.1 pUCPL6AP4B04-H3	Accession number given by the INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY: DSM 12322
II. SCIENTIFIC DESCRIPTION AND/OR PROPOSED TAXONOMIC DESIGNATION	
The microorganism identified under I. above was accompanied by: <input checked="" type="checkbox"/> (X) a scientific description <input checked="" type="checkbox"/> (X) a proposed taxonomic designation (Mark with a cross where applicable).	
III. RECEIPT AND ACCEPTANCE	
This International Depositary Authority accepts the microorganism identified under I. above, which was received by it on 1998-07-20 (Date of the original deposit) ¹ .	
IV. RECEIPT OF REQUEST FOR CONVERSION	
The microorganism identified under I above was received by this International Depositary Authority on (date of original deposit) and a request to convert the original deposit to a deposit under the Budapest Treaty was received by it on (date of receipt of request for conversion).	
V. INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY	
Name: DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH Address: Mascheroder Weg 1b D-38124 Braunschweig	Signature(s) of person(s) having the power to represent the International Depositary Authority or of authorized official(s):  Date: 1998-07-24

¹ Where Rule 6.4 (d) applies, such date is the date on which the status of international depositary authority was acquired.


BUDAPESTER VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE
ANERKENNUNG DER HINTERLEGUNG VON MIKROORGANISMEN
FÜR DIE ZWECKE VON PATENTVERFAHREN

INTERNATIONALES FORMBLATT

Studiengesellschaft
Kohle mbH
Kaiser-Wilhelm-Platz 1

45470 Mühlheim an der Ruhr

LEBENSFÄHIGKEITSBESCHEINIGUNG
ausgestellt gemäß Regel 10.2 von der unten angegebenen
INTERNATIONALEN HINTERLEGUNGSSTELLE

I. HINTERLEGER	II. KENNZEICHNUNG DES MIKROORGANISMUS
Name: Studiengesellschaft Kohle mbH Anschrift: Kaiser-Wilhelm-Platz 1 45470 Mühlheim an der Ruhr	Von der INTERNATIONALEN HINTERLEGUNGSSTELLE zugeteilte EINGANGSNUMMER: DSM 12322 Datum der Hinterlegung oder Weiterleitung ¹ : 1998-07-20
III. LEBENSFÄHIGKEITSBESCHEINIGUNG	
Die Lebensfähigkeit des unter II genannten Mikroorganismus ist am 1998-07-20 ² geprüft worden. Zu diesem Zeitpunkt war der Mikroorganismus (X) ³ lebensfähig () ³ nicht mehr lebensfähig	
IV. BEDINGUNGEN, UNTER DENEN DIE LEBENSFÄHIGKEITSPRÜFUNG DURCHGEFÜHRT WORDEN IST⁴	
V. INTERNATIONALE HINTERLEGUNGSSTELLE	
Name: DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH Anschrift: Mascheroder Weg 1b D-38124 Braunschweig	Unterschrift(en) der zur Vertretung der internationalen Hinterlegungsstelle befugten Person(en) oder des (der) von ihr ermächtigten Bediensteten:  Datum: 1998-07-24

- ¹ Angabe des Datums der Ersthinterlegung. Wenn eine erneute Hinterlegung oder eine Weiterleitung vorgenommen worden ist, Angabe des Datums der jeweils letzten erneuten Hinterlegung oder Weiterleitung.
- ² In den in Regel 10.2 Buchstabe a Ziffer ii und iii vorgesehenen Fällen Angabe der letzten Lebensfähigkeitsprüfung.
- ³ Zutreffendes ankreuzen.
- ⁴ Ausfüllen, wenn die Angaben beantragt worden sind und wenn die Ergebnisse der Prüfung negativ waren.

BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL
RECOGNITION OF THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS
FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE


INTERNATIONAL FORM

Studiengesellschaft
Kohle mbH
Kaiser-Wilhelm-Platz 1

45470 Mühlheim an der Ruhr

VIABILITY STATEMENT

issued pursuant to Rule 10.2 by the
INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY
identified at the bottom of this page

I. DEPOSITOR	II. IDENTIFICATION OF THE MICROORGANISM
Name: Studiengesellschaft Kohle mbH Address: Kaiser-Wilhelm-Platz 1 45470 Mühlheim an der Ruhr	Accession number given by the INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY: DSM 12322 Date of the deposit or the transfer ¹ : 1998-07-20
III. VIABILITY STATEMENT	
The viability of the microorganism identified under II above was tested on 1998-07-20 ² . On that date, the said microorganism was <input checked="checked" type="checkbox"/> ³ viable <input type="checkbox"/> ³ no longer viable	
IV. CONDITIONS UNDER WHICH THE VIABILITY TEST HAS BEEN PERFORMED⁴	
V. INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY	
Name: DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH Address: Mascheroder Weg 1b D-38124 Braunschweig	Signature(s) of person(s) having the power to represent the International Depositary Authority or of authorized official(s):  Date: 1998-07-24

¹ Indicate the date of original deposit or, where a new deposit or a transfer has been made, the most recent relevant date (date of the new deposit or date of the transfer).

² In the cases referred to in Rule 10.2(a) (ii) and (iii), refer to the most recent viability test.

³ Mark with a cross the applicable box.

⁴ Fill in if the information has been requested and if the results of the test were negative.


BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL
RECOGNITION OF THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS
FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE

INTERNATIONAL FORM

Studiengesellschaft
Kohle mbH
Kaiser-Wilhelm-Platz 1

45470 Mühlheim an der Ruhr

RECEIPT IN THE CASE OF AN ORIGINAL DEPOSIT
issued pursuant to Rule 7.1 by the
INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY
identified at the bottom of this page

I. IDENTIFICATION OF THE MICROORGANISM	
Identification reference given by the DEPOSITOR: PABST 7.1 pUCPL6AP4BSF 03-G10	Accession number given by the INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY: DSM 12321
II. SCIENTIFIC DESCRIPTION AND/OR PROPOSED TAXONOMIC DESIGNATION	
The microorganism identified under I. above was accompanied by: (X) a scientific description (X) a proposed taxonomic designation (Mark with a cross where applicable).	
III. RECEIPT AND ACCEPTANCE	
This International Depositary Authority accepts the microorganism identified under I. above, which was received by it on 1998-07-20 (Date of the original deposit) ¹ .	
IV. RECEIPT OF REQUEST FOR CONVERSION	
The microorganism identified under I above was received by this International Depositary Authority on (date of original deposit) and a request to convert the original deposit to a deposit under the Budapest Treaty was received by it on (date of receipt of request for conversion).	
V. INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY	
Name: DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH Address: Mascheroder Weg 1b D-38124 Braunschweig	Signature(s) of person(s) having the power to represent the International Depositary Authority or of authorized official(s):  Date: 1998-07-24

¹ Where Rule 6.4 (d) applies, such date is the date on which the status of international depositary authority was acquired.


BUDAPESTER VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE
ANERKENNUNG DER HINTERLEGUNG VON MIKROORGANISMEN
FÜR DIE ZWECKE VON PATENTVERFAHREN

INTERNATIONALES FORMBLATT

Studiengesellschaft
Kohle mbH
Kaiser-Wilhelm-Platz 1

45470 Mülheim an der Ruhr

LEBENSFÄHIGKEITSBESCHEINIGUNG
ausgestellt gemäß Regel 10.2 von der unten angegebenen
INTERNATIONALEN HINTERLEGUNGSSTELLE

I. HINTERLEGER		II. KENNZEICHNUNG DES MIKROORGANISMUS	
Name: Studiengesellschaft Kohle mbH Anschrift: Kaiser-Wilhelm-Platz 1 45470 Mülheim an der Ruhr		Von der INTERNATIONALEN HINTERLEGUNGSSTELLE zugeteilte EINGANGSNUMMER: DSM 12321 Datum der Hinterlegung oder Weiterleitung ¹ : 1998-07-20	
III. LEBENSFÄHIGKEITSBESCHEINIGUNG			
Die Lebensfähigkeit des unter II genannten Mikroorganismus ist am 1998-07-20 ² geprüft worden. Zu diesem Zeitpunkt war der Mikroorganismus (X) ³ lebensfähig () ³ nicht mehr lebensfähig			
IV. BEDINGUNGEN, UNTER DENEN DIE LEBENSFÄHIGKEITSPRÜFUNG DURCHGEFÜHRT WORDEN IST ⁴			
V. INTERNATIONALE HINTERLEGUNGSSTELLE			
Name: DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH Anschrift: Mascheroder Weg 1b D-38124 Braunschweig		Unterschrift(en) der zur Vertretung der internationalen Hinterlegungsstelle befugten Person(en) oder des (der) von ihr ermächtigten Bediensteten:  Datum: 1998-07-24	

¹ Angabe des Datums der Ersthinterlegung. Wenn eine erneute Hinterlegung oder eine Weiterleitung vorgenommen worden ist, Angabe des Datums der jeweils letzten erneuten Hinterlegung oder Weiterleitung.

² In den in Regel 10.2 Buchstabe a Ziffer ii und iii vorgesehenen Fällen Angabe der letzten Lebensfähigkeitsprüfung.

³ Zutreffendes ankreuzen.

⁴ Ausfüllen, wenn die Angaben beantragt worden sind und wenn die Ergebnisse der Prüfung negativ waren.

BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL
RECOGNITION OF THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS
FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE

INTERNATIONAL FORM


Studiengesellschaft
Kohle mbH
Kaiser-Wilhelm-Platz 1

45470 Mülheim an der Ruhr

VIABILITY STATEMENT

issued pursuant to Rule 10.2 by the

INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY
identified at the bottom of this page

I. DEPOSITOR	II. IDENTIFICATION OF THE MICROORGANISM
Name: Studiengesellschaft Kohle mbH Address: Kaiser-Wilhelm-Platz 1 45470 Mülheim an der Ruhr	Accession number given by the INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY: DSM 12321 Date of the deposit or the transfer ¹ : - 1998-07-20
III. VIABILITY STATEMENT	
The viability of the microorganism identified under II above was tested on 1998-07-20 ² . On that date, the said microorganism was <input checked="" type="checkbox"/> ³ viable <input type="checkbox"/> ³ no longer viable	
IV. CONDITIONS UNDER WHICH THE VIABILITY TEST HAS BEEN PERFORMED⁴	
V. INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY	
Name: DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH Address: Mascheroder Weg 1b D-38124 Braunschweig	Signature(s) of person(s) having the power to represent the International Depositary Authority or of authorized official(s):  Date: 1998-07-24

¹ Indicate the date of original deposit or, where a new deposit or a transfer has been made, the most recent relevant date (date of the new deposit or date of the transfer).

² In the cases referred to in Rule 10.2(a) (ii) and (iii), refer to the most recent viability test.

³ Mark with a cross the applicable box.

⁴ Fill in if the information has been requested and if the results of the test were negative.


BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL
RECOGNITION OF THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS
FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE

INTERNATIONAL FORM

Studiengesellschaft
Kohle mbH
Kaiser-Wilhelm-Platz 1

45470 Mühlheim an der Ruhr

RECEIPT IN THE CASE OF AN ORIGINAL DEPOSIT
issued pursuant to Rule 7.1 by the
INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY
identified at the bottom of this page

I. IDENTIFICATION OF THE MICROORGANISM	
Identification reference given by the DEPOSITOR: PABST 7.1 pUCPL6A P5B 14-C11	Accession number given by the INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY: DSM 12320
II. SCIENTIFIC DESCRIPTION AND/OR PROPOSED TAXONOMIC DESIGNATION	
The microorganism identified under I. above was accompanied by: (X) a scientific description (X) a proposed taxonomic designation (Mark with a cross where applicable).	
III. RECEIPT AND ACCEPTANCE	
This International Depositary Authority accepts the microorganism identified under I. above, which was received by it on 1998-07-20 (Date of the original deposit) ¹ .	
IV. RECEIPT OF REQUEST FOR CONVERSION	
The microorganism identified under I above was received by this International Depositary Authority on (date of original deposit) and a request to convert the original deposit to a deposit under the Budapest Treaty was received by it on (date of receipt of request for conversion).	
V. INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY	
Name: DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH Address: Mascheroder Weg 1b D-38124 Braunschweig	Signature(s) of person(s) having the power to represent the International Depositary Authority or of authorized official(s):  Date: 1998-07-24

¹ Where Rule 6.4 (d) applies, such date is the date on which the status of international depositary authority was acquired.


BUDAPESTER VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE
ANERKENNUNG DER HINTERLEGUNG VON MIKROORGANISMEN
FÜR DIE ZWECKE VON PATENTVERFAHREN

INTERNATIONALES FORMBLATT

Studiengesellschaft
Kohle mbH
Kaiser-Wilhelm-Platz 1

45470 Mühlheim an der Ruhr

LEBENSFÄHIGKEITSBESCHEINIGUNG
ausgestellt gemäß Regel 10.2 von der unten angegebenen
INTERNATIONALEN HINTERLEGUNGSSTELLE

I. HINTERLEGER	II. KENNZEICHNUNG DES MIKROORGANISMUS
Name: Studiengesellschaft Kohle mbH Anschrift: Kaiser-Wilhelm-Platz 1 45470 Mühlheim an der Ruhr	Von der INTERNATIONALEN HINTERLEGUNGSSTELLE zugeteilte EINGANGSNUMMER: DSM 12320 Datum der Hinterlegung oder Weiterleitung ¹ : 1998-07-20
III. LEBENSFÄHIGKEITSBESCHEINIGUNG	
Die Lebensfähigkeit des unter II genannten Mikroorganismus ist am 1998-07-20 ² geprüft worden. Zu diesem Zeitpunkt war der Mikroorganismus (X) ³ lebensfähig () ³ nicht mehr lebensfähig	
IV. BEDINGUNGEN, UNTER DENEN DIE LEBENSFÄHIGKEITSPRÜFUNG DURCHGEFÜHRT WORDEN IST⁴	
V. INTERNATIONALE HINTERLEGUNGSSTELLE	
Name: DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH Anschrift: Mascheroder Weg 1b D-38124 Braunschweig	Unterschrift(en) der zur Vertretung der internationalen Hinterlegungsstelle befugten Person(en) oder des (der) von ihr ermächtigten Bediensteten:  Datum: 1998-07-24

¹ Angabe des Datums der Ersthinterlegung. Wenn eine erneute Hinterlegung oder eine Weiterleitung vorgenommen worden ist, Angabe des Datums der jeweils letzten erneuten Hinterlegung oder Weiterleitung.

² In den in Regel 10.2 Buchstabe a Ziffer ii und iii vorgesehenen Fällen Angabe der letzten Lebensfähigkeitsprüfung.

³ Zutreffendes ankreuzen.

⁴ Ausfüllen, wenn die Angaben beantragt worden sind und wenn die Ergebnisse der Prüfung negativ waren.


BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL
RECOGNITION OF THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS
FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE

INTERNATIONAL FORM

Studiengesellschaft
Kohle mbH
Kaiser-Wilhelm-Platz 1

45470 Mülheim an der Ruhr

VIABILITY STATEMENT
issued pursuant to Rule 10.2 by the
INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY
identified at the bottom of this page

I. DEPOSITOR	II. IDENTIFICATION OF THE MICROORGANISM
Name: Studiengesellschaft Kohle mbH Address: Kaiser-Wilhelm-Platz 1 45470 Mülheim an der Ruhr	Accession number given by the INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY: DSM 12320 Date of the deposit or the transfer ¹ : 1998-07-20
III. VIABILITY STATEMENT	
The viability of the microorganism identified under II above was tested on 1998-07-20 ² . On that date, the said microorganism was (X) ³ viable () ³ no longer viable	
IV. CONDITIONS UNDER WHICH THE VIABILITY TEST HAS BEEN PERFORMED ⁴	
V. INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY	
Name: DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH Address: Mascheroder Weg 1b D-38124 Braunschweig	Signature(s) of person(s) having the power to represent the International Depositary Authority or of authorized official(s):  Date: 1998-07-24

¹ Indicate the date of original deposit or, where a new deposit or a transfer has been made, the most recent relevant date (date of the new deposit or date of the transfer).

² In the cases referred to in Rule 10.2(a) (ii) and (iii), refer to the most recent viability test.

³ Mark with a cross the applicable box.

⁴ Fill in if the information has been requested and if the results of the test were negative.



EPA / EPO / OEB
D - 80298 München
☎ 089 / 2399 - 0
Tx 523 656 epru d
Fax 089 / 2399 - 4465

Europäisch s
Patentamt

Europ an
Pat nt Office

Office uropéen
des br vets

EPA / EPO / OEB D - 80298 München

VON KREISLER, Alek
Deichmannhaus am Hauptbahnhof
Bahnhofsvorplatz
D-50667 KÖLN

Nr. der Anmeldung / Application No. / Demande de brevet n°

PGI/EP 98 / 04612

Tag des Eingangs / Date of Receipt / Date de réception

23.07.98

Zeichen des Anmelders / Vertreters - Applicant / Representative
Ref. No. - Référence du demandeur ou du mandataire

981391wo AvK/JH/rh

Anmelder: Studiengesellschaft
Applicant: Kohle mbH
Demandeur:

Datum / Date 23.07.98

Empfangsbescheinigung / Receipt for documents / Récépissé de documents

Das Europäische Patentamt bescheinigt hiermit den Empfang folgender Dokumente :
The European Patent Office hereby acknowledges the receipt of the following :
L'Office européen des brevets accuse réception des documents indiqués ci-dessous :

A. Anmeldeunterlagen / items making up
the application / pièces de la demande

Stückzahl / No. of copies /
Nombre d'exemplaires

B. Beigefügte Dokumente / accompanying
documents / documents joints

☒ Antrag
Request
Requête

1

☒ Beschreibung
Description

3

☒ Patentanspruch (Patentansprüche)
Claim(s)
Revendication(s)

3

☐ Ggf. unterschiedliche Patentansprüche
Different claims
Le cas échéant, revendications différentes

—

☒ Zeichnung(en)
Drawing(s)
Dessin(s)

3

☒ Zusammenfassung
Abstract
Abrégé

3

☐ Prioritätsbeleg(e)
Priority document(s)
Document(s) de priorité

—

☐ Übersetzung des(r) Prioritätsbelegs(belege)
Translation of priority document(s)
Traduction du ou des documents(s) de priorité

—

☒ Vertretervollmacht
Authorisation of representative(s)
Pouvoir de mandataire

☐ Erfindernennung
Designation of Inventor
Désignation de l'inventeur

☒ Früherer Recherchenbericht
Earlier Search report
Rapport de recherche antérieure

☒ Gebührenberechnungsblatt
Fee calculation sheet
Feuille de calcul des taxes

☒ Abbuchungsauftrag
Debit order
Ordre de débit

Währung/Currency/Monnaie
Betrag/Amount/Montant

4926

☐ Scheck
Cheque
Chèque

Ausfüllung freigestellt/
optional/facultatif

☒ Sonstige Unterlagen
Other documents
Autres documents

- Diskette
- Mikroorganismen

Die genannten Unterlagen sind am oben genannten Tag eingegangen; die Anmeldung hat die ebenfalls oben angeführte
Anmeldenummer erhalten / The said items were received on the date indicated above and the application has been assigned the
above-indicated application number / Les documents mentionnés ont été reçus à la date indiquée; le numéro figurant ci-dessus a été
attribué à la demande de brevet

EPA/EPO/OEB Form 1031 07.93

Unterschrift / Amtsstempel
Signature / Official Stamp
Signature / Cachet officiel

Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets
☑ D-80298 München
T. Touysserkani

09/463494

Patentanwälte Patent Attorneys
514 Rec'd PCT/PTO
VON KREISLER SELTING WERNER

24 JAN 2000

Deichmannhaus am Dom
D-50667 KÖLN

Kopie

von Kreisler Selting Werner · Postfach 102241 · D-50462 Köln
P.O. Box

Europäisches Patentamt

Erhardtstr. 27

80331 München

Patentanwälte

Dr.-Ing. von Kreisler † 1973

Dipl.-Chem. Alek von Kreisler

Dipl.-Ing. Günther Selting

Dipl.-Chem. Dr. Hans-Karsten Werner

Dipl.-Chem. Dr. Johann F. Fues

Dipl.-Ing. Georg Dallmeyer

Dipl.-Ing. Jochen Hilleringmann

Dipl.-Chem. Dr. Hans-Peter Jönsson

Dipl.-Chem. Dr. Hans-Wilhelm Meyers

Dipl.-Chem. Dr. Thomas Weber

Dipl.-Chem. Dr. Jörg Helbing

Unser Zeichen:
981391wo AvK/JH/rh

Köln,
03. August 1998

Internationale Patentanmeldung PCT/EP98/04612
"Verfahren zur Herstellung und Identifizierung von neuen
Hydrolasen mit verbesserten Eigenschaften"
Studiengesellschaft Kohle mbH

Anliegend werden die Hinterlegungsbescheinigungen und Lebensfähigkeitsbescheinigungen für die Mikroorganismen DSM 12320, 12321 und 12322 übersandt.

Der Patentanwalt

Jörg Helbing
(Dr. Jörg Helbing)

Anlagen:
Bescheinigungen zu Mikroorganismen
DSM 12320, 12321 und 12322

Patentanwälte Patent Attorneys
VON KREISLER SELTING WERNER

Deichmannhaus am Dom
D-50667 KÖLN

09/463494

514 Rec'd PCT/PTO 24 JAN 2000

von Kreisler Selting Werner · Postfach 102241 · D-50462 Köln
P.O. Box

Europäisches Patentamt

Erhardtstr. 27

D-80331 München

Kopie

Patentanwälte

Dr.-Ing. von Kreisler † 1973

Dipl.-Chem. Alek von Kreisler

Dipl.-Ing. Günther Selting

Dipl.-Chem. Dr. Hans-Karsten Werner

Dipl.-Chem. Dr. Johann F. Fues

Dipl.-Ing. Georg Dallmeyer

Dipl.-Ing. Jochen Hilleringmann

Dipl.-Chem. Dr. Hans-Peter Jönsson

Dipl.-Chem. Dr. Hans-Wilhelm Meyers

Dipl.-Chem. Dr. Thomas Weber

Dipl.-Chem. Dr. Jörg Helbing

Unser Zeichen:
981391wo/JH/ml

Köln,
21. Juni 1999

Internationale Patentanmeldung PCT/EP98/04612
"Verfahren zur Herstellung und Identifizierung von neuen
Hydrolasen mit verbesserten Eigenschaften"
Studiengesellschaft Kohle mbH

Auf die Aufforderung zur Einschränkung der Ansprüche oder zur
Zahlung zusätzlicher Gebühren vom 01.06.1999.

Es wird um die Prüfung der Gruppe I (Ansprüche 13-20, 27, 28,
30 und 32-34 vollständig sowie Ansprüche 1-12, 21-26, 29 und 31
partiell) gebeten.

Der Patentanwalt


(Dr. Jörg Helbing)

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

Mo Di Mi Do Fr Sa So

11. JAN 1999

Absender: INTERNATIONALE RECHERCHENBEHÖRDE

PCT

IS: 2.55 n. v. k.

An
VON KREISLER, SELTING & WERNER
z.H. Von Kreisler, Alek
Bahnhofsvorplatz 1 (Deichmannhaus)
D-50667 Köln
GERMANY

REGISTERED

AUFFORDERUNG ZUR ZAHLUNG
ZUSÄTZLICHER GEBÜHREN

(Artikel 17(3)a) und Regel 40.1 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts

981391wo

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/04612

Anmelder

STUDIENGESELLSCHAFT KOHLE MBH et al.

Absendedatum
(Tag/Monat/Jahr)

06/01/1999

ZAHLUNG FÄLLIG

innerhalb von 30
ab obigem Absendedatum

MOX/Men/Tagen

Internationales Anmeldedatum
(Tag/Monat/Jahr)

23/07/1998

1. Die Internationale Recherchenbehörde

i) ist der Auffassung, daß die internationale Anmeldung 4 (Anzahl) Erfindungen umfaßt, die in den ~~XXX~~ und/oder auf gesondertem Blatt angegebenen Ansprüchen erfaßt sind:

und ist der Auffassung, daß die internationale Anmeldung dem Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung (Regel 13.1, 13.2 und 13.3) nicht entspricht, und zwar aus ~~den XXX~~ und/oder auf gesondertem Blatt angegebenen Gründen:

ii) ☒ hat eine internationale Teilrecherche durchgeführt (siehe Anhang)

☐ wird den internationalen Recherchenbericht erstellen

für die Teile der internationalen Anmeldung, die sich auf die in den Ansprüchen Nr.

Siehe Gegenstand 1 auf Zusatzblatt zuerst erwähnte Erfindung beziehen.

iii) wird den internationalen Recherchenbericht für die übrigen Teile der internationalen Anmeldung nur insoweit erstellen, als zusätzliche Gebühren entrichtet werden

2. Der Anmelder wird aufgefordert innerhalb der obengenannten Frist den nachstehenden angegebenen Betrag zu entrichten:

DEM 2.200.- x 3 = DEM 6.600.-
Gebühr pro zusätzliche Erfindung Anzahl der zusätzlichen Erfindungen Gesamtbetrag der zusätzlichen Gebühren

Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß nach Regel 40.2 c) die Zahlung einer zusätzlichen Gebühr unter Widerspruch erfolgen kann; dem Widerspruch ist eine Begründung des Inhalts beizufügen, daß die internationale Anmeldung das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung erfülle oder daß der Betrag der geforderten zusätzlichen Gebühr überhöht sei.

3. ☐ Die Ansprüche Nr. haben sich aufgrund von Mängeln nach Artikel 17(2)a) als nicht recherchierbar gemäß Artikel 17(2)b) erwiesen und wurden deshalb keiner Erfindung zugeordnet.

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde



Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL-2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Mireille Claudepierre

Anhang zu Formblatt PCT/ISA/206
MITTEILUNG ÜBER DAS ERGEBNIS DER INTERNATIONALEN
TEILRECHERCHE

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/04612

1. Diese Mitteilung ist ein Anhang zur Aufforderung zur Zahlung zusätzlicher Gebühren (Formblatt PCT/ISA/206). Sie unterrichtet über das Ergebnis der internationalen Recherche zu den Teilen der internationalen Anmeldung, die sich auf die in den folgenden Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung beziehen:
1-34
2. Bei dieser Mitteilung handelt es sich nicht um den internationalen Recherchenbericht der nach Artikel 18 und Regel 43 erstellt wird.
3. Zahlt der Anmelder die zusätzlichen Recherchegebühren nicht, so gelten die Angaben in dieser Mitteilung als Ergebnis der internationalen Recherche und werden in dieser Form in den internationalen Recherchenbericht aufgenommen.
4. Zahlt der Anmelder zusätzliche Gebühren so werden in den Recherchenbericht sowohl die Angaben dieser Mitteilung als auch das Ergebnis der internationalen Recherche zu den übrigen Teilen der internationalen Anmeldung aufgenommen, für die zusätzliche Gebühren entrichtet wurden.

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	SHINKAI A ET AL: "Substitutions of Ser for Asn-163 and Pro for Leu-264 are important for stabilization of lipase from Pseudomonas aeruginosa." JOURNAL OF BIOCHEMISTRY, (1996 NOV) 120 (5) 915-21. JOURNAL CODE: HIF. ISSN: 0021-924X., XP002087459 Japan siehe das ganze Dokument ----	1-34
Y	STADLER P ET AL: "Stereoselectivity of microbial lipases. The substitution at position sn-2 of triacylglycerol analogs influences the stereoselectivity of different microbial lipases." EUROPEAN JOURNAL OF BIOCHEMISTRY, (1995 JAN 15) 227 (1-2) 335-43. JOURNAL CODE: EMZ. ISSN: 0014-2956., XP002087460 GERMANY: Germany, Federal Republic of siehe Seite 335, linke Spalte - Seite 335, rechte Spalte, Absatz 1 ----	1-34
Y	LEUNG D ET AL: "A method for random mutagenesis of a defined DNA segment using a modified polymerase chain reaction" TECHNIQUE, Bd. 1, Nr. 1, August 1989, Seiten 11-15, XP002087461 in der Anmeldung erwähnt siehe das ganze Dokument ----- -/--	1-34

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Anhang zu Formblatt PCT/ISA/206
MITTEILUNG ÜBER DAS ERGEBNIS DER INTERNATIONALEN
TEILRECHERCHE

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/04612

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	CADWELL R AND JOYCE G ET AL: "Randomization of genes by PCR mutagenesis" PCR METHODS AND APPLICATIONS, Bd. 2, 1992, Seiten 28-33, XP002087462 siehe das ganze Dokument ---	1-34
Y	STEMMER W: "DNA shuffling by random fragmentation and reassembly: In vitro recombination for molecular evolution" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, Bd. 91, Oktober 1994, Seiten 10747-10751, XP002087463 WASHINGTON US siehe das ganze Dokument ---	1-34
Y	ZHANG J-H ET AL: "Directed evolution of a fucosidase from galactosidase by DNA shuffling and screening" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, Bd. 94, April 1997, Seiten 4504-4509, XP002087464 WASHINGTON US siehe das ganze Dokument ---	1-34
Y	ZANDONELLA G ET AL: "Enantiomeric perylene-glycerolipids as fluorogenic substrates for a dual wavelength assay of lipase activity and stereoselectivity." CHIRALITY, (1996) 8 (7) 481-89. JOURNAL CODE: AVD. ISSN: 0899-0042., XP002087465 United States siehe das ganze Dokument ---	13-15,20
A	UZAWA H ET AL: "Determination of the lipase stereoselectivities using circular dichroism (CD); lipases produce chiral di-O-acylglycerols from achiral tri-O-acylglycerols." BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA, (1993 JUL 1) 1168 (3) 253-60. JOURNAL CODE: AOW. ISSN: 0006-3002., XP002087466 Netherlands siehe das ganze Dokument ---	
Y	EP 0 443 063 A (HENKEL RESEARCH CORP) 28. August 1991 siehe Beispiel 5 ---	15,20
	-/--	

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	BERGMEYER H: "Methods of enzymatic analysis. Volume II" 1986, VERLAG CHEMIE, WEINHEIM XP002087470 siehe Seite 236 - Seite 239 ---	16,20
Y	MUDERHWA J ET AL: "Purification and properties of the lipases from Rhodotorula pilimanae Hedrick and Burke" APPLIED MICROBIOLOGY BIOTECHNOLOGY, Bd. 23, 1986, Seiten 348-354, XP002087467 siehe Seite 349, linke Spalte, Absatz 4 ---	16,20
Y	DE 44 13 121 A (SCHURIG VOLKER PROF DR) 16. Februar 1995 siehe das ganze Dokument ---	19,20
Y	WO 97 20918 A (RECOMBINANT BIOCATALYSIS INC) 12. Juni 1997 siehe Beispiel 4 ---	19,20
Y	WO 91 15581 A (CREA ROBERTO) 17. Oktober 1991 siehe Seite 3, letzter Absatz - Seite 4 ---	21
P,X	REETZ, MANFRED T. ET AL: "Creation of enantioselective biocatalysts for organic chemistry by in vitro evolution" ANGEW. CHEM., INT. ED. ENGL. (1998), VOLUME DATE 1997, 36(24), 2830-2832 CODEN: ACIEAY; ISSN: 0570-0833, XP002087468 siehe Seite 2831, linke Spalte, Absatz 3 - Seite R ---	1-15,20, 22-34
P,X	REETZ M T ET AL: "Overexpression, immobilization and biotechnological application of Pseudomonas lipases." CHEMISTRY AND PHYSICS OF LIPIDS, (1998 JUN) 93 (1-2) 3-14. REF: 75 JOURNAL CODE: CZW. ISSN: 0009-3084., XP002087469 Irland siehe Seite 11 - Seite 12 -----	1-15, 20-34

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere (Gruppen von) Erfindungen enthält, nämlich:

1. Ansprüche: 13-20 27 28 30 32-34 vollständig 1-12 21-26 29 31 partiell

Verfahren zur Herstellung und Identifizierung von Hydrolase-Mutanten mit verbesserter Stereo- oder Regioselektivität und deren DNA-Sequenzen.

2. Ansprüche: 1-12 21-26 29 31 partiell

Verfahren zur Herstellung und Identifizierung von Hydrolase-Mutanten mit verbesserter katalytischer Aktivität und deren DNA-Sequenzen.

3. Ansprüche: 1-12 21-26 29 31 partiell

Verfahren zur Herstellung und Identifizierung von Hydrolase-Mutanten mit verbesserter Stabilität und deren DNA-Sequenzen.

4. Anspruch : 35

Verfahren zum Test von Katalysatoren

J. Biochemistry 120(1996)915-921 beschreibt die Herstellung von Lipase-mutanten mit verbesserter Stabilität wobei das Lipasegen mittels ein modifizierten Polymerase-Kettenreaktion mutagenisiert ist.

Chirality 8(1996)481-489 und Biochimica et Biophysica Acta 1168(1993)253-260 beschreiben Testverfahren für die Enantioselektivität von Lipasen.

Im Hinblick auf diesen Stand der Technik ist das erste Problem der vorliegenden Anmeldung die Herstellung von Lipasen mit anderen verbesserten Eigenschaften als Stabilität.

Die Lösungen für dieses Problem sind:

1. Ein Verfahren zur Herstellung von Lipasen mit verbesserter Stereo- oder Regioselektivität
2. Ein Verfahren zur Herstellung von Lipasen mit verbesserter katalytischer Aktivität
3. Ein Verfahren zur Herstellung von Lipasen mit verbesserter Stabilität.

Das zweite Problem ist die Bereitstellung eines Testverfahrens von Katalysatoren auf Stereo- oder Regioselektivität

Die Lösung für dieses Problem ist ein Test wobei ein Testsubstrat, das mit einer chromophoren Gruppe versehen ist, angewendet wurde.

Angesichts der Tatsache, dass die Herstellung von Lipase-mutanten mit verbesserter Stabilität mittels einer modifizierten Polymerase-Kettenreaktion schon bekannt ist und angesichts der Tatsache, dass Testverfahren von Katalysatoren auf Stereo- oder regioselektivität schon bekannt sind und dass Selektivität, Aktivität und Stabilität wesentlich verschiedene Eigenschaften von Lipasen sind, und ein Verfahren zur Herstellung von Mutanten und ein Testverfahren von Katalysatoren wesentlich andere Verfahren sind, gibt es erstens keinen technischen Zusammenhang zwischen den Verfahren zur Herstellung von Lipase-mutanten mit verbesserter Stereo- oder Regioselektivität, katalytischer Aktivität oder Stabilität, und zweitens nicht zwischen den Lipase-mutanten und dem Testverfahren.

Weil es keine andere technischen Eigenschaft gibt, die, im Licht des Standes der Technik, als eine spezifische Eigenschaft gesehen werden kann, ist die Internationale Rechercheabteilung der Meinung, dass es kein einzelnes erfinderisches Konzept gibt, dass die Vielfalt der in der Anmeldung vorkommenden Erfindungen vereinen könnte. Somit muss ein Nichteinheitlichkeitsanspruch erhoben werden unter Art. 13.1, PCT.

Anhang Patentfamilie

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/04612

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
EP 0443063	A	28-08-1991	KEINE		
DE 4413121	A	16-02-1995	KEINE		
WO 9720918	A	12-06-1997	AU	1148997 A	27-06-1997
			CA	2239686 A	12-06-1997
			EP	0866853 A	30-09-1998
WO 9115581	A	17-10-1991	AT	126535 T	15-09-1995
			AU	653152 B	22-09-1994
			AU	7741891 A	30-10-1991
			CA	2079802 A	06-10-1991
			DE	69112207 D	21-09-1995
			DE	69112207 T	28-03-1996
			EP	0527809 A	24-02-1993
			ES	2078518 T	16-12-1995
			US	5830650 A	03-11-1998
			US	5798208 A	25-08-1998

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

Absender: INTERNATIONALE RECHERCHENBEHÖRDE

PCT

An															
VON KREISLER, SELTING & WERNER															
z.H. Von Kreisler, Alek															
Bahnhofsvorplatz 1 (Deichmannhaus)															
D-50667 Köln															
GERMANY															
AWK	Sg	W	Da	Mi	Do	Fr	Sa	So	Mo	Di	Mi	Do	Fr	Sa	So
25. MAI 1999															
F. 19.07.99															

MITTEILUNG ÜBER DIE ÜBERMITTLUNG DES
INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHTS
ODER DER ERKLÄRUNG

(Regel 44.1 PCT)

Absendedatum (Tag/Monat/Jahr) 19/05/1999	
Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 981391wo	WEITERES VORGEHEN siehe Punkte 1 und 4 unten
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 98/04612	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 23/07/1998
Anmelder STUDIENGESELLSCHAFT KOHLE MBH et al.	

1. ☒ Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß der internationale Recherchenbericht erstellt wurde und ihm hiermit übermittelt wird.
Einreichung von Änderungen und einer Erklärung nach Artikel 19:
 Der Anmelder kann auf eigenen Wunsch die Ansprüche der internationalen Anmeldung ändern (siehe Regel 46):

Bis wann sind Änderungen einzureichen?
 Die Frist zur Einreichung solcher Änderungen beträgt üblicherweise zwei Monate ab der Übermittlung des internationalen Recherchenberichts; weitere Einzelheiten sind den Anmerkungen auf dem Beiblatt zu entnehmen.

Wo sind Änderungen einzureichen?
 Unmittelbar beim Internationalen Büro der WIPO, 34, CHEMIN des Colombettes, CH-1211 Genf 20,
 Telefaxnr.: (41-22) 740.14.35

 Nähere Hinweise sind den Anmerkungen auf dem Beiblatt zu entnehmen.
2. ☐ Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß kein internationaler Recherchenbericht erstellt wird und daß ihm hiermit die Erklärung nach Artikel 17(2)a) übermittelt wird.
3. ☐ Hinsichtlich des Widerspruchs gegen die Entrichtung einer zusätzlichen Gebühr (zusätzlicher Gebühren) nach Regel 40.2 wird dem Anmelder mitgeteilt, daß

☐ der Widerspruch und die Entscheidung hierüber zusammen mit seinem Antrag auf Übermittlung des Wortlauts sowohl des Widerspruchs als auch der Entscheidung hierüber an die Bestimmungsämter dem Internationalen Büro übermittelt worden sind.

☐ noch keine Entscheidung über den Widerspruch vorliegt; der Anmelder wird benachrichtigt, sobald eine Entscheidung getroffen wurde.
4. **Weiteres Vorgehen:** Der Anmelder wird auf folgendes aufmerksam gemacht:
 Kurz nach Ablauf von **18 Monaten** seit dem Prioritätsdatum wird die internationale Anmeldung vom Internationalen Büro veröffentlicht. Will der Anmelder die Veröffentlichung verhindern oder auf einen späteren Zeitpunkt verschieben, so muß gemäß Regel 90^{bis} bzw. 90^{ter} vor Abschluß der technischen Vorbereitungen für die internationale Veröffentlichung eine Erklärung über die Zurücknahme der internationalen Anmeldung oder des Prioritätsanspruchs beim Internationalen Büro eingehen.

 Innerhalb von **19 Monaten** seit dem Prioritätsdatum ist ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung einzureichen, wenn der Anmelder den Eintritt in die nationale Phase bis zu 30 Monaten seit dem Prioritätsdatum (in manchen Ämtern sogar noch länger) verschieben möchte.

 Innerhalb von **20 Monaten** seit dem Prioritätsdatum muß der Anmelder die für den Eintritt in die nationale Phase vorgeschriebenen Handlungen vor allen Bestimmungsämtern vornehmen, die nicht innerhalb von 19 Monaten seit dem Prioritätsdatum in der Anmeldung oder einer nachträglichen Auswahlerklärung ausgewählt wurden oder nicht ausgewählt werden konnten, da für sie Kapitel II des Vertrages nicht verbindlich ist.

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Bevollmächtigter Bediensteter Andria Overbeeke-Siepkas
---	--

ANMERKUNGEN ZU FORMBLATT PCT/ISA/220

Diese Anmerkungen sollen grundlegende Hinweise zur Einreichung von Änderungen gemäß Artikel 19 geben. Diesen Anmerkungen liegen die Erfordernisse des Vertrags über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens (PCT), der Ausführungsordnung und der Verwaltungsvorschriften zu diesem Vertrag zugrunde. Bei Abweichungen zwischen diesen Anmerkungen und obengenannten Texten sind letztere maßgebend. Nähere Einzelheiten sind dem PCT-Leitfaden für Anmelder, einer Veröffentlichung der WIPO, zu entnehmen.

Die in diesen Anmerkungen verwendeten Begriffe "Artikel", "Regel" und "Abschnitt" beziehen sich jeweils auf die Bestimmungen des PCT-Vertrags, der PCT-Ausführungsordnung bzw. der PCT-Verwaltungsvorschriften.

HINWEISE ZU ÄNDERUNGEN GEMÄSS ARTIKEL 19

Nach Erhalt des internationalen Recherchenberichts hat der Anmelder die Möglichkeit, einmal die Ansprüche der internationalen Anmeldung zu ändern. Es ist jedoch zu betonen, daß, da alle Teile der internationalen Anmeldung (Ansprüche, Beschreibung und Zeichnungen) während des internationalen vorläufigen Prüfungsverfahrens geändert werden können, normalerweise keine Notwendigkeit besteht, Änderungen der Ansprüche nach Artikel 19 einzureichen, außer wenn der Anmelder z.B. zum Zwecke eines vorläufigen Schutzes die Veröffentlichung dieser Ansprüche wünscht oder ein anderer Grund für eine Änderung der Ansprüche vor ihrer internationalen Veröffentlichung vorliegt. Weiterhin ist zu beachten, daß ein vorläufiger Schutz nur in einigen Staaten erhältlich ist.

Welche Teile der internationalen Anmeldung können geändert werden?

Im Rahmen von Artikel 19 können nur die Ansprüche geändert werden.

In der internationalen Phase können die Ansprüche auch nach Artikel 34 vor der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde geändert (oder nochmals geändert) werden. Die Beschreibung und die Zeichnungen können nur nach Artikel 34 vor der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde geändert werden.

Beim Eintritt in die nationale Phase können alle Teile der internationalen Anmeldung nach Artikel 28 oder gegebenenfalls Artikel 41 geändert werden.

Bis wann sind Änderungen einzureichen?

Innerhalb von zwei Monaten ab der Übermittlung des internationalen Recherchenberichts oder innerhalb von sechzehn Monaten ab dem Prioritätsdatum, je nachdem, welche Frist später abläuft. Die Änderungen gelten jedoch als rechtzeitig eingereicht, wenn sie dem Internationalen Büro nach Ablauf der maßgebenden Frist, aber noch vor Abschluß der technischen Vorbereitungen für die internationale Veröffentlichung (Regel 46.1) zugehen.

Wo sind Änderungen nicht einzureichen?

Die Änderungen können nur beim Internationalen Büro, nicht aber beim Anmeldeamt oder der Internationalen Recherchenbehörde eingereicht werden (Regel 46.2).

Falls ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung eingereicht wurde/wird, siehe unten.

In welcher Form können Änderungen erfolgen?

Eine Änderung kann erfolgen durch Streichung eines oder mehrerer ganzer Ansprüche, durch Hinzufügung eines oder mehrerer neuer Ansprüche oder durch Änderung des Wortlauts eines oder mehrerer Ansprüche in der eingereichten Fassung.

Für jedes Anspruchsblatt, das sich aufgrund einer oder mehrerer Änderungen von dem ursprünglich eingereichten Blatt unterscheidet, ist ein Ersatzblatt einzureichen.

Alle Ansprüche, die auf einem Ersatzblatt erscheinen, sind mit arabischen Ziffern zu numerieren. Wird ein Anspruch gestrichen, so brauchen die anderen Ansprüche nicht neu nummeriert zu werden. Im Fall einer Neunummerierung sind die Ansprüche fortlaufend zu numerieren (Verwaltungsvorschriften, Abschnitt 205 b)).

Die Änderungen sind in der Sprache abzufassen, in der die internationale Anmeldung veröffentlicht wird.

Welche Unterlagen sind den Änderungen beizufügen?

Begleitschreiben (Abschnitt 205 b)):

Die Änderungen sind mit einem Begleitschreiben einzureichen.

Das Begleitschreiben wird nicht zusammen mit der internationalen Anmeldung und den geänderten Ansprüchen veröffentlicht. Es ist nicht zu verwechseln mit der "Erklärung nach Artikel 19(1)" (siehe unten, "Erklärung nach Artikel 19 (1)").

Das Begleitschreiben ist nach Wahl des Anmelders in englischer oder französischer Sprache abzufassen. Bei englischsprachigen internationalen Anmeldungen ist das Begleitschreiben aber ebenfalls in englischer, bei französischsprachigen internationalen Anmeldungen in französischer Sprache abzufassen.

VOLLMACHT¹ / AUTHORISATION¹ / POUVOIR¹

Bitte vor dem Ausfüllen des Formblatts Rückseite beachten
Please read the notes overleaf before completing the form
Veuillez lire les remarques au verso avant de remplir le formulaire

Nr. der Anmeldung (des Patents) / Application/Patent No. /
N° de la demande (du brevet)

Zeichen des Vertreters (der Vertreter) (max. 15 Positionen)
Representative's Reference (max. 15 spaces)
Référence du (des) mandataire(s) (15 caractères ou espaces
au maximum)

AvK/JH/IM

Ich (Wir) / I (We) / Je (Nous)²

JÄGER, Karl-Erich
Ruhr-Universität Bochum, Fakultät f. Biologie
Universitätsstrasse 150. D-44790 Bochum

bevollmächtige(n) hiermit / do hereby authorise / autorise (autorisons) par la présente³

Patentanwalte

Dipl.-Chem. Alek von Kreidler, Dipl.-Ing. Günther Seifing, Dr. rer. nat. Hans-Karsten Werner
Dr. rer. nat. Johann-Friedrich Fues, Dipl.-Ing. Georg Dorfmeier, Dipl.-Ing. Jochen Hilleringmann
Dr. rer. nat. Hans-Peter Jönsson, Dr. rer. nat. Hans-Viktor Meyers, Dr. rer. nat. Thomas Weber
Dr. rer. nat. Jörg Heibing

Bahnhofsvorplatz 1 (Deichmannhaus), D-50667 Köln

☐ (Weitere Vertreter sind auf einem gesonderten Blatt angegeben. / Additional representatives indicated on supplementary sheet. /
Les autres mandataires sont mentionnés sur une feuille supplémentaire.)

mich (uns) zu vertreten als / to represent me (us) as / à me (nous) représenter en tant que

☒ Anmelder oder Patentinhaber / applicant(s) or patent proprietor(s) / demandeur(s) ou titulaire(s) du brevet,

☐ Einsprechenden (Einsprechende) / opponent(s) / opposant(s),

für mich (uns) zu handeln in den durch das Europäische Patentübereinkommen geschaffenen Verfahren in der (den) folgenden europäischen
Patentanmeldung(en) oder dem (den) folgenden europäischen Patent(en)* und Zahlungen für mich (uns) in Empfang zu nehmen:
to act for me (us) in all proceedings established by the European Patent Convention concerning the following European patent application(s) or
patent(s)* and to receive payments on my (our) behalf:
à agir en mon (notre) nom dans toute procédure instituée par la Convention sur le brevet européen et concernant la (les) demande(s) de
brevet ou le (les) brevet(s) européen(s)* suivant(s) et à recevoir des paiements en mon (notre) nom:

Verfahren zur Herstellung und Identifizierung von neuen
Hydrolasen mit verbesserten Eigenschaften

☐ Weitere Anmeldungen oder Patente sind auf einem gesonderten Blatt angegeben. / Additional applications or patents indicated on
supplementary sheet. / Les autres demandes ou brevets sont mentionnés sur une feuille supplémentaire.

☒ Die Vollmacht gilt auch für Verfahren nach dem Vertrag über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens.
This authorisation shall also apply to the same extent to any proceedings established by the Patent Cooperation Treaty.
Ce pouvoir s'applique également à toute procédure instituée par le Traité de coopération en matière de brevets.

☒ Diese Vollmacht gilt auch für eventuelle europäische Teilanmeldungen. / This authorisation also covers any European divisional
applications. / Le présent pouvoir vaut également pour les demandes divisionnaires européennes qui pourraient être déposées.

☒ Untervollmacht kann erteilt werden. / Sub-authorisation may be given. / Le pouvoir pourra être délégué.

☐ Ich (Wir) widerrufe(n) hiermit frühere Vollmachten in Sachen der obenbezeichneten Anmeldung(en) oder des obenbezeichneten Patents
(der obenbezeichneten Patente)⁵. / I (We) hereby revoke all previous authorisations in respect of the above application(s) or patent(s)⁵. /
Je révoque (Nous révoquons) par la présente tout pouvoir antérieur, donné pour la (les) demande(s) ou le (les) brevet(s) mentionné(s)
ci-dessus⁵.

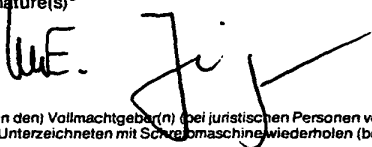
Ort / Place / Lieu

Bochum

Datum / Date

05. August 1998

Unterschrift(en) / Signature(s)⁶



Das Formblatt muß vom (von den) Vollmachtgeber(n) (bei juristischen Personen vom Unterschriftsberechtigten) eigenhändig unterzeichnet sein. Nach der Unterschrift bitte
den (die) Namen des (der) Unterzeichneten mit Schreibmaschine wiederholen (bei juristischen Personen die Stellung des Unterschriftsberechtigten innerhalb der Gesellschaft
angeben).

The form must bear the personal signature(s) of the authoriser(s) (in the case of legal persons, that of the officer empowered to sign). After the signature, please type the
name(s) of the signatory(ies) adding, in the case of legal persons, his (their) position within the company.

Le formulaire doit être signé de la propre main du (des) mandant(s) (dans le cas de personnes morales, de la personne ayant qualité pour signer). Veuillez ajouter à la
machine, après la signature, le (les) nom(s) du (des) signataire(s) en mentionnant, dans le cas de personnes morales, ses (leurs) fonctions au sein de la société.

VOLLMACHT¹ / AUTHORISATION¹ / POUVOIR¹

Bitte vor dem Ausfüllen des Formblatts Rückseite beachten
Please read the notes overleaf before completing the form
Veuillez lire les remarques au verso avant de remplir le formulaire

Nr. der Anmeldung (des Patents) / Application/Patent No. /
N° de la demande (du brevet)

Zeichen des Vertreters (der Vertreter) (max. 15 Positionen)
Representative's Reference (max. 15 spaces)
Référence du (des) mandataire(s) (15 caractères ou espaces
au maximum)

AVK/JH/IM

Ich (Wir) / I (We) / Je (Nous)²

REETZ, Manfred Kaiser-Wilhelm-Platz 1, D-45470 Mülheim/Ruhr
ZONTA, Albin Kaiser-Wilhelm-Platz 1, D-45470 Mülheim/Ruhr
SCHIMOSSEK, Klaus Kaiser-Wilhelm-Platz 1, D-45470 Mülheim/Ruhr
LIEBETON, Klaus, Kaiser-Wilhelm-Platz 1, D-45470 Mülheim/Ruhr

bevollmächtigte(n) hiermit / do hereby authorize / autorise (autorisons) par la présente³

Patentanwälte

Dipl.Chem. Alek von Kreister, Dipl.-Ing. Günther Söling, Dr. rer. nat. Hans-Karsten Werner
Dr. rer. nat. Johann-Friedrich Fues, Dipl.-Ing. Gernot Dalmeyer, Dipl.-Ing. Jochen Hilleringmann
Dr. rer. nat. Hans-Peter Jönsson, Dr. rer. nat. Hans-Wilhelm Meyers, Dr. rer. nat. Thomas Weber
Dr. rer. nat. Jörg Helbing

Bahnhofsvorplatz 1 (Dachmannhaus), D-50667 Köln

☐ (Weitere Vertreter sind auf einem gesonderten Blatt angegeben. / Additional representatives indicated on supplementary sheet. /
Les autres mandataires sont mentionnés sur une feuille supplémentaire.)

mich (uns) zu vertreten als / to represent me (us) as / à me (nous) représenter en tant que

☒ Anmelder oder Patentinhaber / applicant(s) or patent proprietor(s) / demandeur(s) ou titulaire(s) du brevet,

☐ Einsprechenden (Einsprechende) / opponent(s) / opposant(s),

für mich (uns) zu handeln in den durch das Europäische Patentübereinkommen geschaffenen Verfahren in der (den) folgenden europäischen Patentanmeldung(en) oder dem (den) folgenden europäischen Patent(en)* und Zahlungen für mich (uns) in Empfang zu nehmen:
to act for me (us) in all proceedings established by the European Patent Convention concerning the following European patent application(s) or patent(s)* and to receive payments on my (our) behalf:
à agir en mon (notre) nom dans toute procédure instituée par la Convention sur le brevet européen et concernant la (les) demande(s) de brevet ou le (les) brevet(s) européen(s)* suivant(s) et à recevoir des paiements en mon (notre) nom:

Verfahren zur Herstellung und Identifizierung von neuen Hydrolasen
mit verbesserten Eigenschaften

☐ Weitere Anmeldungen oder Patente sind auf einem gesonderten Blatt angegeben. / Additional applications or patents indicated on supplementary sheet. / Les autres demandes ou brevets sont mentionnés sur une feuille supplémentaire.

☒ Die Vollmacht gilt auch für Verfahren nach dem Vertrag über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens.
This authorisation shall also apply to the same extent to any proceedings established by the Patent Cooperation Treaty.
Ce pouvoir s'applique également à toute procédure instituée par le Traité de coopération en matière de brevets.

☒ Diese Vollmacht gilt auch für eventuelle europäische Teilanmeldungen. / This authorisation also covers any European divisional applications. / Le présent pouvoir vaut également pour les demandes divisionnaires européennes qui pourraient être déposées.

☒ Untervollmacht kann erteilt werden. / Sub-authorisation may be given. / Le pouvoir pourra être délégué.

☐ Ich (Wir) widerrufe(n) hiermit frühere Vollmachten in Sachen der obenbezeichneten Anmeldung(en) oder des obenbezeichneten Patents (der obenbezeichneten Patente)⁵. / I (We) hereby revoke all previous authorisations in respect of the above application(s) or patent(s)⁵. / Je révoque (Nous révoquons) par la présente tout pouvoir antérieur, donné pour la (les) demande(s) ou le (les) brevet(s) mentionné(s) ci-dessus⁵.

Ort / Place / Lieu Mülheim/Ruhr

Datum / Date 5. August 1998

Unterschrift(en) / Signature(s)⁶

M. T. Reetz Albin Zonta K. Schimossek K. Liebeton

Das Formblatt muß vom (von den) Vollmachtgeber(n) (bei juristischen Personen vom Unterschriftsberechtigten) eigenhändig unterzeichnet sein. Nach der Unterschrift bitte den (die) Namen des (den) Unterzeichneten mit Schreibmaschine wiederholen (bei juristischen Personen die Stellung des Unterschriftsberechtigten innerhalb der Gesellschaft angeben).

The form must bear the personal signature(s) of the authoriser(s) (in the case of legal persons, that of the officer empowered to sign). After the signature, please type the name(s) of the signatory(ies) adding, in the case of legal persons, his (their) position within the company.

Le formulaire doit être signé de la propre main du (des) mandant(s) (dans le cas de personnes morales, de la personne ayant qualité pour signer). Veuillez ajouter à la machine, après la signature, le (les) nom(s) du (des) signataire(s) en mentionnant, dans le cas de personnes morales, ses (leurs) fonctions au sein de la société.

Patentanwälte

514 Re PCT/PTO
Patent Attorneys

09/463494
24 JAN 2000

VON KREISLER SELTING WERNER

Deichmannhaus am Dom
D-50667 KÖLN

von Kreisler Selting Werner · Postfach 102241 · D-50462 Köln
P.O. Box

Europäisches Patentamt

Erhardtstr. 27

D-80331 München

Kopie

Patentanwälte

Dr.-Ing. von Kreisler † 1973

Dipl.-Chem. Alek von Kreisler

Dipl.-Ing. Günther Selting

Dipl.-Chem. Dr. Hans-Karsten Werner

Dipl.-Chem. Dr. Johann F. Fues

Dipl.-Ing. Georg Dallmeyer

Dipl.-Ing. Jochen Hilleringmann

Dipl.-Chem. Dr. Hans-Peter Jönsson

Dipl.-Chem. Dr. Hans-Wilhelm Meyers

Dipl.-Chem. Dr. Thomas Weber

Dipl.-Chem. Dr. Jörg Helbing

Unser Zeichen:

981391wo/JH/ml

Internationale Patentanmeldung PCT/EP98/04612

"Verfahren zur Herstellung und Identifizierung von neuen
Hydrolasen mit verbesserten Eigenschaften"

Studiengesellschaft Kohle mbH

Köln,

7. Oktober 1999

Auf den schriftlichen Bescheid vom 05.07.1999.

Anliegend wird in dreifacher Ausführung eine geänderte Seite 58 der Patentansprüche (umfassend Ansprüche 1 - 3) übersandt, die dem weiteren Verfahren zugrunde gelegt werden sollen. Weiterhin werden geänderte Seiten 4 und 4a der Beschreibung eingereicht, die die ursprünglich eingereichte Seite 4 ersetzen sollen.

Seite 58 unterscheidet sich von der ursprünglich eingereichten Seite 58 allein dadurch, daß in Anspruch 1, Zeile 3 "katalytische Aktivität oder Stabilität" gestrichen wurde. Geänderte Seiten 4 und 4a der Beschreibung gehen aus der ursprünglichen Seite 4 der Beschreibung hervor, in der in dem Absatz "Beschreibung der Erfindung" der Wortlaut der unabhängigen Ansprüche der Anmeldung, wie ursprünglich eingereicht, eingefügt wurden.

Die Anmelderin ist daher der Auffassung, daß die Änderung nicht über den Inhalt der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen.

Zu IV. und V. wird in dem obengenannten Bescheid ausgeführt, daß die Gruppe der Ansprüche, die in Erwiderung auf dem Bescheid vom 01.06.99 von der Anmelderin gewählt wurde, den An-

spruch 1, der sich auf die Herstellung von Hydrolasemutanten richtet, umfaßt.

Diese Verallgemeinerung des von der Anmelderin ausgewählten Gegenstandes ist nicht korrekt. Tatsächlich wurde der im Internationalen Recherchenbericht als Gruppe 1 bezeichnete Teil der Anmeldung ausgewählt, nämlich ein Verfahren zur Herstellung und Identifizierung von Hydrolasemutanten mit verbesserter Stereo- und Regioselektivität und deren DNA-Sequenzen.

Die Prüfungsbehörde argumentiert dann, daß Anspruch 1 ein einfaches Analogieverfahren zur Mutation von beliebigen Genen, gefolgt von der Selektion auf eine gewünschte Eigenschaft des entsprechenden Expressionsprodukts, wie es in D1 oder D2 beschrieben ist, darstellt, und daß die Auswahl des Ausgangsprodukts und/oder des gewünschten Effekts (hier Stereoselektivität gegenüber der allgemeinen Methode), keine erfinderische Tätigkeit substantiieren können. Dieser Ausführung kann ebenfalls nicht gefolgt werden.

Dieastereomerenreine und insbesondere enantiomerenreine Verbindungen spielen in der pharmazeutischen Industrie eine zunehmende Rolle (Arzneimittelgesetz). Deshalb besteht ein Bedarf an neuen verbesserten Methoden zu deren Herstellung. Hierfür werden z. B. Hydrolasen und insbesondere Lipasen eingesetzt.

Viele in der Natur vorkommende Lipasen sind zwar enantioselektiv, aber nicht gegenüber jedem beliebigen Substrat. Dieses bedeutet im Umkehrschluß, daß natürliche Hydrolasen normalerweise die gewünschte Enantioselektivität für ein gegebenes Substrat nicht aufweisen. Aus diesem Grund gibt es zahlreiche Versuche zur Verbesserung der Enantioselektivität einer gegebenen Reaktion mit konventionellen Methoden, z. B. mit Lösungsmittelvariation (E. Santaniello et al., Chem. Rev. 1992, 92, 1071) und Zusatz von Salzen (T. Okamoto et al., Chem. Commun. 1999, 939) sowie Versuche mit ortsspezifischer Mutagenese (M. Holmquist et al., J. Protein Chem. 1993, 12, 749). Allerdings sind auch diese Methoden nicht allgemein gültig.

Die Anmelderin möchte darauf hinweisen, daß die Eigenschaft "Diastereoselektivität" und insbesondere "Enantioselektivität"

besonders schwierig vorauszusagen und zu steuern ist. Es gab zum Prioritätszeitpunkt der vorliegenden Anmeldung keine Hinweise, daß die Verfahren, wie sie in D1 und D2 beschrieben sind, d. h. Methoden der "gerichteten Evolution", für Diastereo- bzw. Enantioselektivität anwendbar sind.

Es wurde gefunden, daß ein wichtiger Parameter des erfindungsgemäßen Verfahrens eine niedrige Mutageneserate ist, die letztlich über die Konzentration der Magnesiumionen einstellbar ist. Hierzu wurde im Rahmen der vorliegenden Erfindung ein optimaler Konzentrationsbereich ermittelt.

Als wesentlich für die vorliegende Erfindung ist insbesondere die Kombination des Mutageneseverfahrens mit einem High Throughput Screening System, das auf Enantioselektivität getestet. Wichtig ist auch, daß bei optimierter Enantioselektivität die Aktivität erhalten bleibt.

Daß das in der vorliegenden Anmeldung beanspruchte Verfahren hinsichtlich der Verbesserung der Enantioselektivität keineswegs naheliegend ist, wie der Prüfer behauptet, belegt zum einen, daß es von anderen wohl wegen geringer Erfolgswahrscheinlichkeit nicht versucht worden ist, zum anderen die Tatsache, daß die Veröffentlichungen und Vorträge zu dieser Erfindung größte Aufmerksamkeit fanden, wie dies der Hinweis in Chem. Eng. December 22, 1997, S. 37 auf einen Artikel der Anmelderin zeigt.

Die Anmelderin ist daher der Auffassung, daß das Verfahren gemäß Ansprüchen 1 - 22 auf einer erfinderischen Tätigkeit beruht.

Die in dem schriftlichen Bescheid hinsichtlich der Ansprüche 23 - 26 geäußerten Vorbehalte werden in den regionalen/nationalen Phasen der vorliegenden Anmeldung behandelt werden.

Der Patentanwalt


(Dr. Jörg Helbing)

Anlagen

Seiten 4, 4a und 58 (dreifach)

Auszug von Chem. Enc. 1997, S 37 (einfach)

Ausbeute zu exprimieren. Dies ist jedoch für ein leistungsfähiges Screeningsystem unverzichtbar, da zu geringe Enzym-Aktivitäten bei der Bestimmung der Enantioselektivität aufgrund der begrenzten Empfindlichkeit eines Testsystems nur schwer nachzuweisen sind.

Gegenstand der Erfindung:

Der Erfindung lag daher die Aufgabe zugrunde, ein einfaches Verfahren zur Herstellung von mutierten Hydrolasen, insbesondere Lipasen bzw. Esterasen, mit verbesserter Stereo-, bzw. Regioselektivität, katalytischer Aktivität und Stabilität gegenüber gegebenen Substraten (z.B. Carbonsäuren, Alkoholen, Aminen sowie deren Derivaten) zu entwickeln, das zudem eine schnelle Identifizierung positiver Mutanten aus umfangreichen Mutantenbibliotheken ermöglicht, sowie die Verwendung der so hergestellten Enzyme bei der Racematspaltung von chiralen Alkoholen, Säuren und Aminen sowie deren Derivaten.

Beschreibung der Erfindung:

Die vorliegende Erfindung betrifft

(1) ein Verfahren zur Herstellung und Identifizierung von Hydrolase-Mutanten mit verbesserten Eigenschaften hinsichtlich Stereo- oder Regioselektivität, katalytischer Aktivität oder Stabilität, dadurch gekennzeichnet, daß

- a) ein Ausgangs-Hydrolasegen mittels einer modifizierten Polymerase-Kettenreaktion (PCR) mutagenisiert wird, wobei durch Einstellen der Mg^{2+} -, Mn^{2+} - und der Desoxynucleotid-Konzentrationen sowie der Einstellung der Zyklenanzahl die Mutationsfrequenz und Gesamtanzahl der Mutationen in der amplifizierten DNA eingestellt wird und/oder
- b) ein oder mehrere Ausgangs-Hydrolasegene, ein oder mehrere gemäß Schritt a) mutierte Hydrolasegene oder Gemische von einem oder mehreren Ausgangs-Hydrolasegenen und einem oder mehreren gemäß Schritt a) mutierten Hydrolasegenen durch enzymatische Fragmentierung dieser Gene und nachfolgender enzymatischer Reassemblierung der entstandenen Fragmente zu vollständig rekombinierten Hydrolasegenen mutagenisiert werden,

- c) die gemäß Schritt a) oder b) erhaltenen mutierten Hydrolasegene in einen Wirtsorganismus transformiert werden und
- d) Hydrolase-Mutanten mit verbesserten Eigenschaften, die von in Schritt c) erhaltenen Transformanten exprimiert werden, durch ein Testverfahren identifiziert werden;
- (2) eine Hydrolasemutante erhältlich aus durch das unter (1) definierte Verfahren;
- (3) eine DNA-Sequenz, die für die unter (2) definierte Hydrolasemutante kodiert;
- (4) ein Vektor, umfassend die unter (3) definierte DNA-Sequenz;
- (5) eine Transformante, umfassend eine DNA-Sequenz, wie unter (3) definiert und/oder einen Vektor, wie unter (4) definiert;
- (6) ein Verfahren zur Herstellung von Hydrolasemutanten mit verbesserten Eigenschaften, umfassend das Kultivieren einer Transformanten gemäß (5); und
- (7) ein Verfahren zum Test von Katalysatoren auf Stereo- oder Regioselektivität, wobei ein Testsubstrat und die reinen Stereo- oder Regioisomeren des Testsubstrates, die mit einer chromophoren Gruppe versehen sind, die nach der Abspaltung durch den Katalysator eine spektrometrisch bestimmbare Änderung der Absorption oder Emission hervorruft, in getrennten Testgefäßen mit gleichen Mengen des Katalysators versetzt werden und die Stereo- oder Regioselektivität aus dem Verhältnis der erhaltenen linearen Anfangsgeschwindigkeiten der Reaktionen bestimmt wird.

Die Herstellung der neuen Biokatalysatoren beginnt in der Regel mit der Isolierung eines Lipase- bzw. Esterase-Gens aus dem Ursprungsorganismus. Hierfür kommen alle mikrobiellen, pflanzlichen und tierischen Organismen in Frage, die Träger eines Lipase- bzw. Esterase-Gens sind. Die Genisolierung kann nach den literaturbekannten Methoden vorgenommen werden (J. Sambrook, E.F. Fritsch, T. Maniatis, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989, New York). In der Regel wird dazu die genomische DNA mit Hilfe von Restriktionsendonucleasen fragmentiert und die erhaltenen Genfragmente in einem Wirtsorganismus (z.B. *E. coli*) kloniert. Unter Verwendung von Oligonucleotiden, die sequenzhomolog zu einem Abschnitt des Lipase- bzw. Esterase-Gens sind, wird dann in Hybridisierungsexperimenten das Gen in der Genbank identifiziert und nachfolgend isoliert.

Patentansprüche:

1. Verfahren zur Herstellung und Identifizierung von Hydrolase-Mutanten mit verbesserten Eigenschaften hinsichtlich Stereo- oder Regioselektivität, dadurch gekennzeichnet, daß

a) ein Ausgangs-Hydrolasegen mittels einer modifizierten Polymerase-Kettenreaktion (PCR) mutagenisiert wird, wobei durch Einstellen der Mg^{2+} -, Mn^{2+} - und der Desoxynucleotid-Konzentrationen sowie der Einstellung der Zyklenanzahl die Mutationsfrequenz und Gesamtanzahl der Mutationen in der amplifizierten DNA eingestellt wird, und/oder

b) ein oder mehrere Ausgangs-Hydrolasegene, ein oder mehrere gemäß Schritt a) mutierte Hydrolasegene oder Gemische von einem oder mehreren Ausgangs-Hydrolasegenen und einem oder mehreren gemäß Schritt

a) mutierten Hydrolasegenen durch enzymatische Fragmentierung dieser Gene und nachfolgender enzymatischer Reassemblierung der entstandenen Fragmente zu vollständig rekombinierten Hydrolasegenen mutagenisiert werden,

c) die gemäß Schritt a) oder b) erhaltenen mutierten Hydrolasegene in einen Wirtsorganismus transformiert werden und

d) Hydrolase-Mutanten mit verbesserten Eigenschaften, die von in Schritt c) erhaltenen Transformanten exprimiert werden, durch ein Testverfahren identifiziert werden.

2. Verfahren gemäß Anspruch 1, wobei in Schritt a) bei der PCR durch Einstellen der Mg^{2+} -, Mn^{2+} - und der Desoxynucleotid-Konzentration eine durchschnittliche Mutationsfrequenz von 1-2 Basenaustauschen bezogen auf das zu mutagenisierende Hydrolasegen eingestellt wird.

3. Verfahren gemäß Anspruch 1, wobei in Schritt a) als Ausgangs-Hydrolasegen ein in einer zuvor gemäß Anspruch 1 durchgeführten PCR mutagenisiertes Hydrolasegen eingesetzt wird.

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

Absender: MIT DER INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN
PRÜFUNG BEAUFTRAGTE BEHÖRDE

An:

V n Kreisler, Alek
VON KREISLER, SELTING & WERNER
Bahnhofsvorplatz 1 (Deichmannhaus)
D-50667 Köln
ALLEMAGNE

A	K	S	g	W	Da	Hi	HP	ME	TW	JH	K
07. JUL. 1999											
F: 05.10.99											

PCT

SCHRIFTLICHER BESCHIED
(Regel 66 PCT)

Absendedatum
(Tag/Monat/Jahr)

05. 07. 99

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts
981391wo AvK/JH/ml

ANTWORT FÄLLIG innerhalb von 3 Monaten
ab obigem Absendedatum

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP98/04612

Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr)
23/07/1998

Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr)
25/07/1997

Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK
C12N15/55

Anmelder

STUDIENGESELLSCHAFT KOHLE MBH et al.

- Dieser Bescheid ist der erste schriftliche Bescheid der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde
- Dieser Bescheid enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Bescheides
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☒ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Regel 66.2(a)(ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☐ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

- Der Anmelder wird aufgefordert, zu diesem Bescheid Stellung zu nehmen

Wann? Siehe oben genannte Frist. Der Anmelder kann vor Ablauf dieser Frist bei der Behörde eine Verlängerung beantragen, siehe Regel 66.2 d).

Wie? Durch Einreichung einer schriftlichen Stellungnahme und gegebenenfalls von Änderungen nach Regel 66.3. Zu Form und Sprache der Änderungen, siehe Regeln 66.8 und 66.9.

Dazu: Hinsichtlich einer zusätzlichen Möglichkeit zur Einreichung von Änderungen, siehe Regel 66.4. Hinsichtlich der Verpflichtung des Prüfers, Änderungen und/oder Gegenvorstellungen zu berücksichtigen, siehe Regel 66.4 bis. Hinsichtlich einer formlosen Erörterung mit dem Prüfer, siehe Regel 66.6.

Wird keine Stellungnahme eingereicht, so wird der internationale vorläufige Prüfungsbericht auf der Grundlage dieses Bescheides erstellt.

- Der Tag, an dem der internationale vorläufige Prüfungsbericht gemäß Regel 69.2 spätestens erstellt sein muß, ist der: 25/11/1999.

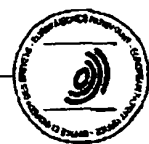
Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragte Behörde:

 Europäisches Patentamt
D-80298 München
Tel. (+49-89) 2399-0 Tx: 523656 epmu d
Fax: (+49-89) 2399-4465

Bevollmächtigter Bediensteter / Prüfer

Grosskopf, R

Formalsachbearbeiter (einschl. Fristverlängerung)
Vullo, C
Tel. (+49-89) 2399 8061



SCHRIFTLICHER BESCHEID

Internationales Aktenzeichen PCT/EP98/04612

I. Grundlage des Bescheids

1. Dieser Bescheid wurde erstellt auf der Grundlage (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Bescheids als "ursprünglich eingereicht".*);

Beschreibung, Seiten:

1-57 ursprüngliche Fassung

Patentansprüche, Nr.:

1-35 ursprüngliche Fassung

Zeichnungen, Blätter:

1,2 ursprüngliche Fassung

2. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung, Seiten:
- ☐ Ansprüche, Nr.:
- ☐ Zeichnungen, Blatt:

3. Dieser Bescheid ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)):

4. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

IV. Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung

1. Auf die Aufforderung zur Einschränkung der Ansprüche oder zur Zahlung zusätzlicher Gebühren (Formblatt PCT/IPEA/405) hat der Anmelder:

- ☐ die Ansprüche eingeschränkt.
- ☐ zusätzliche Gebühren entrichtet.
- ☐ zusätzliche Gebühren unter Widerspruch entrichtet.
- ☒ weder die Ansprüche eingeschränkt noch zusätzliche G bühren entrichtet.

SCHRIFTLICHER BESCHEID

Internationales Aktenzeichen PCT/EP98/04612

2. ☐ Die Behörde hat festgestellt, daß das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung aus folgenden Gründen nicht erfüllt ist, und hat gemäß Regel 68.1 beschlossen, den Anmelder nicht zur Einschränkung der Ansprüche oder zur Zahlung zusätzlicher Gebühren aufzufordern:

3. Daher wurde zur Erstellung dieses Bescheids eine internationale vorläufige Prüfung für folgende Teile der internationalen Anmeldung durchgeführt:

☐ alle Teile.

☒ die Teile, die sich auf die Ansprüche Nr. 1-3, 11-34 beziehen.

V. Begründete Feststellung nach Regel 66.2(a)(ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ansprüche 23-26
Erfinderische Tätigkeit (IS)	Ansprüche 1-3, 11-22
Gewerbliche Anwendbarkeit (IA)	Ansprüche

2. Unterlagen und Erklärungen:

siehe Beiblatt

**SCHRIFTLICHER BESCHEID
BEIBLATT**

Internationales Aktenzeichen PCT/EP98/04612

Zu Punkt IV und V:

Die Gruppe der Ansprüche, die in Erwiderung auf den 405 von der Anmelderin gewählt wurde, umfaßt den Anspruch 1, der sich auf die Herstellung von Hydrolase-Mutanten richtet.

Anspruch 1 selbst beinhaltet wiederum zwei Alternativen im ersten Schritt des Verfahrens, nämlich Schritt (a) oder (b).

Die weiteren Ansprüche 2 und 3 beinhalten Ausführungsformen des Schrittes (a), die Ansprüche 4 bis 10 Ausführungsformen des Schrittes (b) und die Ansprüche 13 bis 22 Ausführungsformen des abschließenden Schrittes (d).

Ansprüche 23 bis 26 schließlich richten sich auf unbestimmte Mutanten und Ansprüche 27 bis 34 auf spezifische Mutanten bzw. die dafür codierende DNA.

Streng genommen geben also die beiden verschiedenen Ausführungsformen des Anspruchs 1 Anlaß zu weiteren Beanstandungen mangelnder Einheitlichkeit.

Da es sich bei dem Schritt (b) aber nur um eine fakultative Ausführungsform handelt, die keine einschränkende Auswirkung auf den Schutzzumfang hat, wird diese Variante (und konsequenterweise auch die Ansprüche 4 bis 10) in dieser Stellungnahme nicht berücksichtigt.

Bezüglich der verbleibenden Ansprüche gelten die folgenden Einwände.

Anspruch 1, Variante (a) stellt ein einfaches Analogverfahren zur Mutation von beliebigen Genen gefolgt von der Selektion auf eine gewünschte Eigenschaft des entsprechenden Expressionsproduktes dar, wie es z.B. allgemein in D1 (PCR Methods and Applications, Bd. 2 (1992), Seiten 28-33) oder in D2 (Journal of Biochemistry, (1996), 120(5) 915-921) sogar für Hydrolasen (Lipasen) beschrieben ist.

Allein die Auswahl des Ausgangsproduktes (Hydrolase) und/oder des gewünschten Effektes (Stereoselektivität) können gegenüber der allgemeinen Methode keine erfinderische Tätigkeit substantiieren.

Das gleiche gilt für die in den Ansprüchen 13 bis 22 aufgeführten Schritte, die nur bekannte Testkriterien zur Selektion gewünschten Eigenschaft beschreiben und vom Fachmann in Abhängigkeit dieser gewünschten Eigenschaft in Anwendung gebracht würden.

**SCHRIFTLICHER BESCHEID
BEIBLATT**

Internationales Aktenzeichen PCT/EP98/04612

Die in den Ansprüchen 23 bis 26 beschriebenen Hydrolase-Mutanten sind, in Abwesenheit des präzise definierten Ausgangsproduktes völlig undefiniert und somit nicht unterscheidbar von jeder x-beliebigen Hydrolase (da sowohl die Begriffe "verbessert" als auch "mutiert" nur in Relation zu einem Ausgangsprodukt einen Sinn ergeben).

Dagegen kann in Bezug auf die **spezifischen** Hydrolasen gemäß Anspruch 27 und 28 auf Grund der verbesserten Eigenschaften (in Bezug auf das definierte Ausgangsprodukt) eine erfinderische Tätigkeit anerkannt werden.

Die Einheitlichkeit scheint ebenfalls gegeben, da (mit Ausnahme der von der Transformanten P4BSF 03-G10 exprimierten Mutante) alle Mutanten eine gemeinsam mutierte Position aufweisen.

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT



(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 981391wo AvK/JH/ml	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsbericht (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP98/04612	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 23/07/1998	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 25/07/1997
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12N15/55		
Anmelder STUDIENGESELLSCHAFT KOHLE MBH et al.		

1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationale vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 5 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.
☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).
Diese Anlagen umfassen insgesamt 3 Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☒ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderische Tätigkeit und der gewerbliche Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☐ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 22/01/1999	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 15. 11. 99
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Grosskopf, R Tel. Nr. +49 89 2399 8714 

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP98/04612

I. Grundlage des Berichts

1. Dieser Bericht wurde erstellt auf der Grundlage (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten.*):

Beschreibung, Seiten:

1-3,5-57 ursprüngliche Fassung

4,4a eingegangen am 09/10/1999 mit Schreiben vom 07/10/1999

Patentansprüche, Nr.:

4-35 ursprüngliche Fassung

1-3 eingegangen am 09/10/1999 mit Schreiben vom 07/10/1999

Zeichnungen, Blätter:

1,2 ursprüngliche Fassung

2. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung, Seiten:
- ☐ Ansprüche, Nr.:
- ☐ Zeichnungen, Blatt:

3. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)):

4. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

IV. Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung

1. Auf die Aufforderung zur Einschränkung der Ansprüche oder zur Zahlung zusätzlicher Gebühren hat der Anmelder:
- ☐ die Ansprüche eingeschränkt.
 - ☐ zusätzliche Gebühren entrichtet.

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER
PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/EP98/04612

- ☐ zusätzliche Gebühren unter Widerspruch entrichtet.
- ☒ weder die Ansprüche eingeschränkt noch zusätzliche Gebühren entrichtet.
2. ☐ Die Behörde hat festgestellt, daß das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung nicht erfüllt ist, und hat gemäß Regel 68.1 beschlossen, den Anmelder nicht zur Einschränkung der Ansprüche oder zur Zahlung zusätzlicher Gebühren aufzufordern.
3. Die Behörde ist der Auffassung, daß das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung nach den Regeln 13.1, 13.2 und 13.3
- ☐ erfüllt ist
- ☒ aus folgenden Gründen nicht erfüllt ist:
siehe Beiblatt
4. Daher wurde zur Erstellung dieses Berichts eine internationale vorläufige Prüfung für folgende Teile der internationalen Anmeldung durchgeführt:
- ☐ alle Teile.
- ☒ die Teile, die sich auf die Ansprüche Nr. 1-3, 11-34 beziehen.

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1-3, 11-22, 27-34
	Nein: Ansprüche	23-26
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	27-34
	Nein: Ansprüche	1-3, 11-22
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-3, 11-34
	Nein: Ansprüche	

2. Unterlagen und Erklärungen

siehe Beiblatt

Zu Punkt IV und V:

Die Gruppe der Ansprüche, die in Erwiderung auf den 405 von der Anmelderin gewählt wurde, umfaßt den Anspruch 1, der sich auf die Herstellung von Hydrolase-Mutanten richtet, die verbesserte Eigenschaften hinsichtlich Stereo- oder Regioselektivität zeigen.

Anspruch 1 selbst beinhaltet wiederum zwei Alternativen im ersten Schritt des Verfahrens, nämlich Schritt (a) **oder** (b).

Die weiteren Ansprüche 2 und 3 beinhalten Ausführungsformen des Schrittes (a), die Ansprüche 4 bis 10 Ausführungsformen des Schrittes (b) und die Ansprüche 13 bis 22 Ausführungsformen des abschließenden Schrittes (d).

Ansprüche 23 bis 26 schließlich richten sich auf unbestimmte Mutanten und Ansprüche 27 bis 34 auf spezifische Mutanten bzw. die dafür codierende DNA.

Streng genommen geben also die beiden verschiedenen Ausführungsformen des Anspruchs 1 Anlaß zu weiteren Beanstandungen mangelnder Einheitlichkeit.

Da es sich bei dem Schritt (b) aber nur um eine fakultative Ausführungsform handelt, die keine einschränkende Auswirkung auf den Schutzzumfang hat, wird diese Variante (und konsequenterweise auch die Ansprüche 4 bis 10) in dieser Stellungnahme nicht berücksichtigt.

Bezüglich der verbleibenden Ansprüche gelten die folgenden Einwände.

Anspruch 1, Variante (a) stellt ein einfaches Analogverfahren zur Mutation von beliebigen Genen gefolgt von der Selektion auf eine gewünschte Eigenschaft des entsprechenden Expressionsproduktes dar, wie es z.B. allgemein in D1 (PCR Methods and Applications, Bd. 2 (1992), Seiten 28-33) oder in D2 (Journal of Biochemistry, (1996), 120(5) 915-921) sogar für Hydrolasen (Lipasen) beschrieben ist.

Allein die Auswahl des Ausgangsproduktes (Hydrolase) und/oder des gewünschten Effektes (Stereo- oder Regioselektivität) können gegenüber der allgemeinen Methode keine erfinderische Tätigkeit substantiieren.

Das gleiche gilt für die in den Ansprüchen 13 bis 22 aufgeführten Schritte, die nur bekannte Testkriterien zur Selektion gewünschter Eigenschaft beschreiben und vom Fachmann in Abhängigkeit dieser gewünschten Eigenschaft in Anwendung

gebracht würden.

Sollte die Anmelderin der Ansicht sein, daß eine erfinderische Tätigkeit in der **Auswahl** bestimmter Reaktionsbedingungen oder bestimmter Schritte im Selektionsverfahren liegt, so ist anzumerken, daß diese nicht unmittelbar dem Anspruchswortlaut und insbesondere nicht den unabhängigen Ansprüchen zu entnehmen ist.

Die in den Ansprüchen 23 bis 26 beschriebenen Hydrolase-Mutanten sind, in Abwesenheit des präzise definierten Ausgangsproduktes völlig undefiniert und somit nicht unterscheidbar von jeder x-beliebigen Hydrolase (da sowohl die Begriffe "verbessert" als auch "mutiert" nur in Relation zu einem Ausgangsprodukt einen Sinn ergeben).

Dagegen kann in Bezug auf die **spezifischen** Hydrolasen gemäß Anspruch 27 und 28 auf Grund der verbesserten Eigenschaften (in Bezug auf das definierte Ausgangsprodukt) eine erfinderische Tätigkeit anerkannt werden.

Die Einheitlichkeit scheint ebenfalls gegeben, da (mit Ausnahme der von der Transformanten P4BSF 03-G10 exprimierten Mutante) alle Mutanten eine gemeinsam mutierte Position aufweisen.

Der Antrag ist bei der zuständigen mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde oder, wenn zwei oder mehr Behörden zuständig sind, bei der vom Anmelder gewählten Behörde einzureichen. Der Anmelder kann den Namen oder den Zweibuchstaben-Code der Behörde auf der nachstehenden Zeile angeben.

IPEA/

Kopie

PCT

KAPITEL II

ANTRAG AUF INTERNATIONALE VORLÄUFIGE PRÜFUNG

nach Artikel 31 des Vertrags über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens:
Der (die) Unterzeichnete(n) beantragt (beantragen), daß für die nachstehend bezeichnete internationale Anmeldung die internationale vorläufige Prüfung nach dem Vertrag über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens durchgeführt wird und benennt hiermit als ausgewählte Staaten
alle auswählbaren Staaten (soweit nichts anderes angegeben).

Von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde auszufüllen

Bezeichnung der IPEA		Eingangsdatum des ANTRAGS	
Feld Nr. I KENNZEICHNUNG DER INTERNATIONALEN ANMELDUNG		Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 981391wo AvK/JH/ml	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP98/04612	Internationales Anmeldedatum (Tag Monat Jahr) 23.07.98	(Frühester) Prioritätstag (Tag/Monat/Jahr) 25.07.97	
Bezeichnung der Erfindung Verfahren zur Herstellung und Identifizierung von neuen Hydrolasen mit verbesserten Eigenschaften			
Feld Nr. II ANMELDER			
Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personenvollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.) Studiengesellschaft Kohle mbH Kaiser-Wilhelm-Platz 1 45470 Mülheim/Ruhr DE		Telefonnr.: 0208-306-2003 Telefaxnr.: 0208-306-2988 Fernschreibnr.:	
Staatsangehörigkeit (Staat): DE		Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE	
Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.) REETZ, Manfred T. Kaiser-Wilhelm-Platz 1 45470 Mülheim/Ruhr DE			
Staatsangehörigkeit (Staat): DE		Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE	
Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.) ZONTA, Albin Kaiser-Wilhelm-Platz 1 45470 Mülheim/Ruhr DE			
Staatsangehörigkeit (Staat): DE		Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE	
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Anmelder sind auf einem Fortsetzungsblatt angegeben.			

Fortsetzung von Feld Nr. II ANMELDER

Wird keines der folgenden Felder benutzt, so sollte dieses Blatt dem Antrag nicht beigelegt werden.

Name und Anschrift: *(Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)*

SCHIMOSSEK, Klaus
Kaiser-Wilhelm-Platz 1
45470 Mülheim/Ruhr
DE

Staatsangehörigkeit (Staat):
DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):
DE

Name und Anschrift: *(Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)*

LIEBETON, Klaus
Kaiser-Wilhelm-Platz 1
45470 Mülheim/Ruhr
DE

Staatsangehörigkeit (Staat):
DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):
DE

Name und Anschrift: *(Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)*

JÄGER, Karl-Erich
Ruhr Universität Bochum
Fakultät f. Biologie
Universitätsstr. 150
44790 Bochum
DE

Staatsangehörigkeit (Staat):
DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):
DE

Name und Anschrift: *(Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)*

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

☐ Weitere Anmelder sind auf einem zusätzlichen Fortsetzungsblatt angegeben.

Feld Nr. III ANWALT ODER GEMEINSAMER VERTRETER; ODER ZUSTELLANSCHRIFT

Die folgende Person ist ☒ Anwalt ☐ gemeinsamer Vertreter

und ☒ ist vom (von den) Anmelder(n) bereits früher bestellt worden und vertritt ihn (sie) auch für die internationale vorläufige Prüfung.

☐ wird hiermit bestellt; eine etwaige frühere Bestellung eines Anwalts/gemeinsamen Vertreters wird hiermit widerrufen.

☐ wird hiermit zusätzlich zu dem bereits früher bestellten Anwalt/gemeinsamen Vertreter, nur für das Verfahren vor der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde bestellt.

Name und Anschrift: *(Familienname, Vorname; bei juristischen Personenvollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)*

VON KREISLER, Alek
Deichmannhaus am Hauptbahnhof
Bahnhofsvorplatz
50667 Köln
DE

Telefonnr.:

0221/916520

Telefaxnr.:

0221/13 42 97

Fernschreibnr.:

☐ **Zustellanschrift:** Dieses Kästchen ist anzukreuzen, wenn kein Anwalt oder gemeinsamer Vertreter bestellt ist und statt dessen im obigen Feld eine spezielle Zustellanschrift angegeben wird.

Feld Nr. IV GRUNDLAGE DER INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN PRÜFUNG**Erklärung betreffend Änderungen:***

- Der Anmelder wünscht, daß die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage ☒ der internationalen Anmeldung in der ursprünglich eingereichten Fassung der Beschreibung ☒ in der ursprünglich eingereichten Fassung ☐ unter Berücksichtigung der Änderungen nach Artikel 34
 - der Patentansprüche ☒ in der ursprünglich eingereichten Fassung ☐ unter Berücksichtigung der Änderungen nach Artikel 19 (ggf. zusammen mit Begleitschreiben) ☐ unter Berücksichtigung der Änderungen nach Artikel 34
 - der Zeichnungen ☒ in der ursprünglich eingereichten Fassung ☐ unter Berücksichtigung der Änderungen nach Artikel 34 aufgenommen wird.
- ☐ Der Anmelder wünscht, daß jegliche nach Artikel 19 eingereichte Änderung der Ansprüche als überholt angesehen wird.
 - ☐ Der Anmelder wünscht, daß der Beginn der internationalen vorläufigen Prüfung bis zum Ablauf von 20 Monaten ab dem Prioritätsdatum **aufgeschoben wird**, sofern die mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde nicht eine Kopie nach Artikel 19 vorgenommenen Änderungen oder eine Erklärung des Anmelders erhält, daß er keine solchen Änderungen vornehmen will (Regel 69.1 d)). *(Dieses Kästchen darf nur angekreuzt werden, wenn die Frist nach Artikel 19 noch nicht abgelaufen ist.)*
- * Wenn kein Kästchen angekreuzt wird, wird mit der internationalen vorläufigen Prüfung auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der ursprünglich eingereichten Fassung begonnen; wenn eine Kopie der Änderungen der Ansprüche nach Artikel 19 und/oder Änderungen der internationalen Anmeldung nach Artikel 34 bei der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde eingeht, bevor diese mit der Erstellung eines schriftlichen Bescheids oder des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts begonnen hat, wird jedoch die geänderte Fassung verwendet.

Sprache für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung: DEUTSCH ;

- ☒ dies ist die Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht wurde.
- ☐ dies ist die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht wurde.
- ☐ dies ist die Sprache der Veröffentlichung der internationalen Anmeldung.
- ☐ dies ist die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht wurde/wird.

Feld Nr. V BENENNUNG VON STAATEN ALS AUSGEWÄHLTE STAATEN

Der Anmelder benennt hiermit als ausgewählte Staaten alle auswählbaren Staaten *(das heißt, alle Staaten, die bestimmt wurden und durch Kapitel II gebunden sind)* mit Ausnahme der folgenden Staaten, die der Anmelder nicht benennen möchte:

Feld Nr. VI KONTROLLISTE

Dem Antrag liegen folgende Unterlagen für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung in der in Feld Nr. IV angegebenen Sprache bei:

- | | | |
|--|---|---------|
| 1. Übersetzung der internationalen Anmeldung | : | Blätter |
| 2. Änderungen nach Artikel 34 | : | Blätter |
| 3. Kopie (oder, falls erforderlich, Übersetzung) der Änderungen nach Artikel 19 | : | Blätter |
| 4. Kopie (oder, falls erforderlich, Übersetzung) einer Erklärung nach Artikel 19 | : | Blätter |
| 5. Begleitschreiben | : | Blätter |
| 6. Sonstige (einzeln auflühren) | : | Blätter |

Von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde auszufüllen

erhalten nicht erhalten


<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Dem Antrag liegen außerdem die nachstehend angekreuzten Unterlagen bei:

- | | |
|---|---|
| 1. <input checked="" type="checkbox"/> Blatt für die Gebührenberechnung | 4. <input type="checkbox"/> Begründung für das Fehlen einer Unterschrift |
| 2. <input type="checkbox"/> unterzeichnete gesonderte Vollmacht | 5. <input type="checkbox"/> Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenzprotokoll in computerlesbarer Form |
| 3. <input type="checkbox"/> Kopie der allgemeinen Vollmacht; Aktenzeichen (falls vorhanden): 4462 | 6. <input type="checkbox"/> sonstige (einzeln auflühren): |

Feld Nr. VII UNTERSCHRIFT DES ANMELDERS, ANWALTS ODER GEMEINSAMEN VERTRETERS

Der Name jeder unterzeichnenden Person ist neben der Unterschrift zu wiederholen, und es ist anzugeben, sofern sich dies nicht aus dem Antrag ergibt, in welcher Eigenschaft die Person unterzeichnet.


(Dipl.-Ing. Günther Selting)
Köln, 20.01.99

Von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde auszufüllen

- | | |
|--|---|
| 1. Datum des tatsächlichen Eingangs des ANTRAGS: | |
| 2. Geändertes Eingangsdatum des Antrags aufgrund von BERICHTIGUNGEN nach Regel 60.1.b): | |
| 3. <input type="checkbox"/> Eingangsdatum des Antrags NACH Ablauf von 19 Monaten ab Prioritätsdatum; Punkt 4 und Punkt 5, unten, finden keine Anwendung. | <input type="checkbox"/> Der Anmelder wurde entsprechend unterrichtet |
| 4. <input type="checkbox"/> Eingangsdatum des Antrags INNERHALB 19 Monate ab Prioritätsdatum wegen Fristverlängerung nach Regel 80.5. | |
| 5. <input type="checkbox"/> Das Eingangsdatum des Antrags liegt nach Ablauf von 19 Monaten ab Prioritätsdatum, der verspätete Eingang ist aber nach Regel 82 ENTSCHULDIGT. | |

Vom Internationalen Büro auszufüllen

Antrag vom IPEA erhalten am:

PCT

KAPITEL II

BLATT FÜR DIE GEBÜHRENBERECHNUNG

Anhang zum Antrag auf internationale vorläufige Prüfung

<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20%;">Internationales Aktenzeichen</td> <td>PCT/EP98/04612</td> </tr> <tr> <td>Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts</td> <td>981391wo AVK/JH/ml</td> </tr> </table>	Internationales Aktenzeichen	PCT/EP98/04612	Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts	981391wo AVK/JH/ml	<p style="text-align: center;">Von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde auszufüllen</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="height: 40px; vertical-align: middle;">Eingangsstempel der IPEA</td> </tr> </table>	Eingangsstempel der IPEA
Internationales Aktenzeichen	PCT/EP98/04612					
Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts	981391wo AVK/JH/ml					
Eingangsstempel der IPEA						
Anmelder Studiengesellschaft Kohle mbH Kaiser-Wilhelm-Platz 1 45470 Mülheim/Ruhr - DE						
Berechnung der vorgeschriebenen Gebühren						
1. Gebühr für die vorläufige Prüfung	DM 3000,00 P					
2. Bearbeitungsgebühr (Anmelder aus einigen Staaten haben Anspruch auf eine Ermäßigung der Bearbeitungsgebühr um 75%. Hat der Anmelder (oder haben alle Anmelder) einen solchen Anspruch, so beträgt der in Feld H einzutragende Betrag 25 % der Bearbeitungsgebühr.)	DM 285,00 H					
3. Gesamtbetrag der vorgeschriebenen Gebühren Addieren Sie die Beträge in den Feldern P und H und tragen Sie die Summe in das nebenstehende Feld ein	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="text-align: center;">DM 3285,00</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">INSGESAMT</td> </tr> </table>	DM 3285,00	INSGESAMT			
DM 3285,00						
INSGESAMT						
Zahlungsart						
<input checked="" type="checkbox"/> Abbuchungsauftrag für das laufende Konto bei der IPEA (siehe unten)	<input type="checkbox"/> Barzahlung					
<input type="checkbox"/> Scheck	<input type="checkbox"/> Gebührenmarken					
<input type="checkbox"/> Postanweisung	<input type="checkbox"/> Kupons					
<input type="checkbox"/> Bankwechsel	<input type="checkbox"/> Sonstige (einzeln angeben):					
Abbuchungsauftrag (diese Zahlungsweise gibt es nicht bei allen Behörden)						
Die IPEA/ _____ <input checked="" type="checkbox"/> wird beauftragt, den vorstehend angegebenen Gesamtbetrag der Gebühren von meinem laufenden Konto abzubuchen.						
<input type="checkbox"/> (dieses Kästchen darf nur angekreuzt werden, wenn die Vorschriften der IPEA über laufende Konten dieses Verfahren erlauben) wird beauftragt, Fehlbeträge oder Überzahlungen des vorstehend angegebenen Gesamtbetrags der Gebühren meinem laufenden Konto zu belasten bzw. gutzuschreiben.						
2800 0007	20.01.99					
Kontonummer	Datum (Tag/Monat/Jahr)					
(Dipl.-Ing. G. Selting)						
Unterschrift						

1. JUN. 1999 14:38

EPA MÜNCHEN 07 089/2399-4465

NR. 3713 S. 1/2

EPA MÜNCHEN 07

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

Absender: MIT DER INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN
PRÜFUNG BEAUFTRAGTE BEHÖRDE

fax nr. 0221-13 42 97

PCT

An:

Von Kreisler, Alek
VON KREISLER, SELTING & WERNER
Bahnhofsvorplatz 1 (Deichmannhaus)
D-50667 Köln
ALLEMAGNE

1 JUN 1999

01. JUN. 1999

AUFFORDERUNG ZUR EINSCHRÄNKUNG
DER ANSPRÜCHE ODER ZUR ZAHLUNG
ZUSÄTZLICHER GEBÜHREN

(Artikel 34 (3) a) und Regel 68.2 PCT)

Absendedatum
(Tag/Monat/Jahr)

01.06.99

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts
981391wo AvK/JH/ml

ANTWORT FÄLLIG innerhalb von 1 Monat(en)
ab obigem Absendedatum

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP98/04612

Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr)
23/07/1998

Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr)
25/07/1997

Internationale Patentklassifikation (IPC) oder nationale Klassifikation und IPC
C12N15/55

Anmelder

STUDIENGESELLSCHAFT KOHLE MBH et al.

1. Die mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde

- (i) ist der Auffassung, dass die internationale Anmeldung dem Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung aus den im Anhang angegebenen Gründen nicht genügt (Regel 13.1, 13.2 und 13.3).
- (ii) ist der Auffassung, dass mit der internationalen Anmeldung 4 Erfindungen beansprucht werden (siehe Anhang).
- (iii) weist darauf hin, dass sich die internationale vorläufige Prüfung nicht auf Ansprüche erstrecken muss, die sich auf Erfindungen beziehen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt worden ist (Regel 66.1 e)).


2. Der Anmelder wird daher aufgefordert, die Ansprüche innerhalb der oben genannten Frist einzuschränken, wie unter Punkt 3 unten vorgeschlagen, oder den nachstehend angegebenen Betrag zu bezahlen:

$$\begin{array}{rcl} \text{€ } 1.533.- & & 4.599 \text{ €} \\ \text{(DEM 2.998,27)} & \times & 3 \\ \text{Gebühr pro zusätzliche Erfindung} & \text{Zahl der zusätzlichen Erfindungen} & \text{Gesamtbetrag der zusätzlichen Gebühren} \\ & & = 8.994,87 \text{ DEM} \end{array}$$

Der Anmelder wird drahtingewiesen, dass gemäss Regel 68.3 c) die Zahlung zusätzlicher Gebühren unter Widerspruch erfolgen kann; dem Widerspruch ist eine Begründung des Inhalts beizufügen, dass die internationale Anmeldung das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung erfülle oder dass der Betrag der geforderten zusätzlichen Gebühr überhöht sei.

- 3. Falls sich der Anmelder für eine Einschränkung der Ansprüche entscheidet, schlägt die Behörde die im Anhang angegebenen Einschränkungsmöglichkeiten vor, die nach ihrer Auffassung dem Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung genügen.
- 4. Geht keine Erwiderung des Anmelders ein, so erstellt die Behörde den internationalen vorläufigen Prüfungsbericht über die im Anhang angegebenen Teile der internationalen Anmeldung, die sich nach ihrer Auffassung auf die Haupterfindung zu beziehen scheinen.

Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragten Behörde

 Europäisches Patentamt
D-80298 München
Tel. (+49-89) 2399-0 Tx: 523656 epmu d
Fax: (+49-89) 2399-4465

Bevollmächtigter Bediensteter

Grosskopf, R

Tel. (+49-89) 2399-



**AUFFORDERUNG ZUR EINSCHRÄNKUNG
DER ANSPRÜCHE ODER ZUR ZAHLUNG
ZUSÄTZLICHER GEBÜHREN**

Internationales Aktenzeichen PCT/EP98/04612

Der beauftragte Prüfer stimmt mit der Meinung des Recherchenprüfers überein, daß der vorliegende Anspruchssatz (mindestens) vier Gruppen von Ansprüchen enthält, die nicht durch ein gemeinsames erfinderisches Konzept miteinander verbunden sind.

Da die Anmelderin die erforderlichen weiteren Recherchegebühren bezahlt hat, ergeben sich für die weitere Behandlung der Anmeldung die folgenden Möglichkeiten.

Die Anmelderin zahlt auch eine oder mehrere zusätzliche Prüfungsgebühren unter Angabe der Gruppen für die eine Prüfung erwünscht wird.

Die Anmelderin zahlt keine weitere Prüfungsgebühr und gibt an welche Gruppe geprüft werden soll.

Sollte keine Reaktion der Anmelderin erfolgen, so wird die Prüfung der Gruppe 3, d.h. der Ansprüche 1-12, 21-26, 29 und 31 (jeweils partiell) erfolgen, da insbesondere die Produktansprüche der Gruppe 1 Anlaß zu weiteren Einwänden mangelnder Einheitlichkeit geben könnte.

2. JUN. 1999 13:55'8

BMPATENT VON KREISLER, KOELN5

NR. 70715 S. 3/2

MÜNCHEN 07

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

Absender: MIT DER INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN
PRÜFUNG BEAUFTRAGTE BEHÖRDE

fax nr. 0221-13 42 97
PCT

An:

Von Kreisler, Alek
VON KREISLER, SELTING & WERNER
Bahnhofsvorplatz 1 (Deichmannhaus)
D-50667 Köln
ALLEMAGNE

AUFFORDERUNG ZUR EINSCHRÄNKUNG
DER ANSPRÜCHE ODER ZUR ZAHLUNG
ZUSÄTZLICHER GEBÜHREN
(Artikel 34 (3) a) und Regel 68.2 PCT)

01. JUN. 1999

Absendedatum
(Tag/Monat/Jahr)

01.06.99

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts
981391wo AvK/JH/ml

ANTWORT FÄLLIG innerhalb von 1 Monat(en)
ab obigem Absendedatum

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP98/04612

Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr)
23/07/1998

Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr)
25/07/1997

Internationale Patentklassifikation (IPC) oder nationale Klassifikation und IPC
C12N15/55

Anmelder

STUDIENGESELLSCHAFT KOHLE MBH et al.

1. Die mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde

- (i) ist der Auffassung, dass die internationale Anmeldung dem Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung aus den im Anhang angegebenen Gründen nicht genügt (Regel 13.1, 13.2 und 13.3).
- (ii) ist der Auffassung, dass mit der internationalen Anmeldung 4 Erfindungen beansprucht werden (siehe Anhang).
- (iii) weist darauf hin, dass sich die internationale vorläufige Prüfung nicht auf Ansprüche erstrecken muss, die sich auf Erfindungen beziehen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt worden ist (Regel 68.1 a)).

2. Der Anmelder wird daher aufgefordert, die Ansprüche innerhalb der oben genannten Frist einzuschränken, wie unter Punkt 3 unten vorgeschlagen, oder den nachstehend angegebenen Betrag zu bezahlen:

$$\begin{array}{rcl} \text{€ } 1.533.- & & 4.599 \text{ €} \\ \text{(DEM 2.998,27)} \times \frac{3}{\text{Zahl der zusätzlichen Erfindungen}} & = & \frac{8.994,87 \text{ DEM}}{\text{Gesamtbetrag der zusätzlichen Gebühren}} \end{array}$$

Der Anmelder wird drahtingewiesen, dass gemäss Regel 68.3 c) die Zahlung zusätzlicher Gebühren unter Widerspruch erfolgen kann; dem Widerspruch ist eine Begründung des Inhalts beizufügen, dass die internationale Anmeldung das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung erfülle oder dass der Betrag der geforderten zusätzlichen Gebühr überhöht sei.

3. Falls sich der Anmelder für eine Einschränkung der Ansprüche entscheidet, schlägt die Behörde die im Anhang angegebenen Einschränkungsmöglichkeiten vor, die nach ihrer Auffassung dem Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung genügen.
4. Geht keine Erwiderung des Anmelders ein, so erstellt die Behörde den internationalen vorläufigen Prüfungsbericht über die im Anhang angegebenen Teile der internationalen Anmeldung, die sich nach ihrer Auffassung auf die Haupterfindung zu beziehen scheinen.

Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragten Behörde



Europäisches Patentamt
D-80289 München
Tel. (+49-89) 2399-0 Tx: 523655 opmu d
Fax: (+49-89) 2399-4465

Bevollmächtigter Bediensteter

Grosskopf, R

Tel. (+49-89) 2399-



**AUFFORDERUNG ZUR EINSCHRÄNKUNG
DER ANSPRÜCHE ODER ZUR ZAHLUNG
ZUSÄTZLICHER GEBÜHREN**Internationales Aktenzeichen **PCT/EP98/04612**

Der beauftragte Prüfer stimmt mit der Meinung des Recherchenprüfers überein, daß der vorliegende Anspruchssatz (mindestens) vier Gruppen von Ansprüchen enthält, die nicht durch ein gemeinsames erfinderisches Konzept miteinander verbunden sind.

Da die Anmelderin die erforderlichen weiteren Recherchegebühren bezahlt hat, ergeben sich für die weitere Behandlung der Anmeldung die folgenden Möglichkeiten.

Die Anmelderin zahlt auch eine oder mehrere zusätzliche Prüfungsgebühren unter Angabe der Gruppen für die eine Prüfung erwünscht wird.

Die Anmelderin zahlt keine weitere Prüfungsgebühr und gibt an welche Gruppe geprüft werden soll.

Sollte keine Reaktion der Anmelderin erfolgen, so wird die Prüfung der Gruppe 3, d.h. der Ansprüche 1-12, 21-26, 29 und 31 (jeweils partiell) erfolgen, da insbesondere die Produktansprüche der Gruppe 1 Anlaß zu weiteren Einwänden mangelnder Einheitlichkeit geben könnte.

**VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS**

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 981391wo	WEITERES VORGEHEN	siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5
Internationales Aktenzeichen PCT/ EP 98/ 04612	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 23/07/1998	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 25/07/1997
Anmelder STUDIENGESELLSCHAFT KOHLE MBH et al.		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 7 Blätter.



Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

- a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.



Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

- b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das



in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.



zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.



bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.



bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.



Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.



Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☒ **Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen** (siehe Feld I).

3. ☒ **Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung** (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung



wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.



wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

5. Hinsichtlich der Zusammenfassung



wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.



wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der **Zeichnungen** ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. _____



wie vom Anmelder vorgeschlagen



weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.



weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.



keine der Abb.

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erweisen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☐ Ansprüche Nr. _____
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich _____
2. ☐ Ansprüche Nr. _____
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich _____
3. ☐ Ansprüche Nr. _____
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

siehe Zusatzblatt

1. ☒ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr. _____
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt: _____

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- ☒ Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere (Gruppen von) Erfindungen enthält, nämlich:

1. Ansprüche: 13-20 27 28 30 32-34 vollständig 1-12 21-26 29 31 partiell

Verfahren zur Herstellung und Identifizierung von Hydrolase-Mutanten mit verbesserter Stereo- oder Regioselektivität und deren DNA-Sequenzen.

2. Ansprüche: 1-12 21-26 29 31 partiell

Verfahren zur Herstellung und Identifizierung von Hydrolase-Mutanten mit verbesserter katalytischer Aktivität und deren DNA-Sequenzen.

3. Ansprüche: 1-12 21-26 29 31 partiell

Verfahren zur Herstellung und Identifizierung von Hydrolase-Mutanten mit verbesserter Stabilität und deren DNA-Sequenzen.

4. Anspruch : 35

Verfahren zum Test von Katalysatoren

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 6 C12N15/55 C12N15/10 C12N9/20 C12N1/21 C12Q1/44

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 6 C12N C12Q

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	SHINKAI A ET AL: "Substitutions of Ser for Asn-163 and Pro for Leu-264 are important for stabilization of lipase from Pseudomonas aeruginosa." JOURNAL OF BIOCHEMISTRY, (1996 NOV) 120 (5) 915-21. JOURNAL CODE: HIF. ISSN: 0021-924X., XP002087459 Japan	1,2,11, 12, 22-26, 29,31, 32,34
Y	siehe das ganze Dokument --- -/-	1-34

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

19. April 1999

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

17.05.99

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Van der Schaal, C

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y +	STADLER P ET AL: "Stereoselectivity of microbial lipases. The substitution at position sn-2 of triacylglycerol analogs influences the stereoselectivity of different microbial lipases." EUROPEAN JOURNAL OF BIOCHEMISTRY, (1995 JAN 15) 227 (1-2) 335-43. JOURNAL CODE: EMZ. ISSN: 0014-2956., XP002087460 GERMANY: Germany, Federal Republic of siehe Seite 335, linke Spalte - Seite 335, rechte Spalte, Absatz 1 ----	1-34
Y	✓ DE 44 08 152 A (STUDIENGESELLSCHAFT KOHLE MBH) 14. September 1995 siehe Seite 2, Zeile 16 - Zeile 18 siehe Seite 2, Zeile 28 ----	1-12, 21-26, 29,31
Y +	LEUNG D ET AL: "A method for random mutagenesis of a defined DNA segment using a modified polymerase chain reaction" TECHNIQUE, Bd. 1, Nr. 1, August 1989, Seiten 11-15, XP002087461 in der Anmeldung erwähnt siehe das ganze Dokument ----	1-34
Y +	CADWELL R AND JOYCE G ET AL: "Randomization of genes by PCR mutagenesis" PCR METHODS AND APPLICATIONS, Bd. 2, 1992, Seiten 28-33, XP002087462 siehe das ganze Dokument insbesondere siehe Seite 30, linke Spalte, Absatz 2 siehe Seite 31, mittlere Spalte, letzter Absatz ----	1-34
Y +	STEMMER W: "DNA shuffling by random fragmentatio and reassembly: In vitro recombination for molecular evolution" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, Bd. 91, Oktober 1994, Seiten 10747-10751, XP002087463 WASHINGTON US siehe das ganze Dokument ----	1-34

-/--

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y +	ZHANG J-H ET AL: "Directed evolution of a fucosidase from galactosidase by DNA shuffling and screening" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, Bd. 94, April 1997, Seiten 4504-4509, XP002087464 WASHINGTON US siehe das ganze Dokument	1-34
A	UZAWA H ET AL: "Determination of the lipase stereoselectivities using circular dichroism (CD); lipases produce chiral di-O-acylglycerols from achiral tri-O-acylglycerols." BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA, (1993 JUL 1) 1168 (3) 253-60. JOURNAL CODE: AOW. ISSN: 0006-3002., XP002087466 Netherlands siehe das ganze Dokument	
Y +	ZANDONELLA G ET AL: "Enantiomeric perylene-glycerolipids as fluorogenic substrates for a dual wavelength assay of lipase activity and stereoselectivity." CHIRALITY, (1996) 8 (7) 481-89. JOURNAL CODE: AVD. ISSN: 0899-0042., XP002087465 United States siehe das ganze Dokument	13-15, 20,35
Y +	EP 0 443 063 A (HENKEL RESEARCH CORP) 28. August 1991 siehe Beispiel 5	13-15, 20,35
Y	DATABASE WPI Section Ch, Week 9409 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B04, AN 94-068478 XP002100284 & JP 06 014772 A (NAGASE SANGYO KK) , 25. Januar 1994 siehe Zusammenfassung	13-15, 20,35
Y +	WO 97 20918 A (RECOMBINANT BIOCATALYSIS INC) 12. Juni 1997 siehe Beispiel 4	13,14, 19,20,35
Y +	BERGMEYER H: "Methods of enzymatic analysis. Volume II" 1986, METHODS OF ENZYMATIC ANALYSIS, SAMPLES, REAGENTS, ASSESMENT OF RESULT, NR. VOL. 2, PAGE(S) 236 - 239, BERGMEYER H U XP002100288 siehe das ganze Dokument	16,20

-/--

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y +	MUDERHWA J ET AL: "Purification and properties of the lipases from <i>Rhodotorula pilimanae</i> Hedrick and Burke" APPLIED MICROBIOLOGY BIOTECHNOLOGY, Bd. 23, 1986, Seiten 348-354, XP002087467 siehe Seite 349, linke Spalte, Absatz 4 ---	16,20
Y	JENSEN R ET AL: "Determination of lipase specificity" LIPIDS, ✓ Bd. 18, Nr. 3, 1983, Seiten 239-252, XP002100282 siehe Seite 247, linke Spalte, Absatz 1 siehe Seite 248, linke Spalte, Zeile 2 ---	17,18, 20,35
Y +	DE 44 13 121 A (SCHURIG VOLKER PROF DR) 16. Februar 1995 siehe das ganze Dokument ---	19,20
Y +	WO 91 15581 A (CREA ROBERTO) 17. Oktober 1991 siehe Seite 3, letzter Absatz - Seite 4 ---	21
X	ZANDONELLA G ET AL: "Inversion of lipase stereospecificity for fluorogenic alkyl diacyl glycerols." U EUROPEAN JOURNAL OF BIOCHEMISTRY, Bd. 231, 1995, Seiten 50-55, XP002100283 Y siehe Zusammenfassung siehe Seite 51, rechte Spalte, Absatz 6 - Absatz 7 ---	35
P,X +	REETZ, MANFRED T. ET AL: "Creation of enantioselective biocatalysts for organic chemistry by in vitro evolution" ANGEW. CHEM., INT. ED. ENGL. (1998), VOLUME DATE 1997, 36(24), 2830-2832 CODEN: ACIEAY; ISSN: 0570-0833, XP002087468 siehe Seite 2831, linke Spalte, Absatz 3 - Seite R ---	1-15,20, 22-35
P,X +	REETZ M T ET AL: "Overexpression, immobilization and biotechnological application of <i>Pseudomonas</i> lipases." CHEMISTRY AND PHYSICS OF LIPIDS, (1998 JUN) 93 (1-2) 3-14. REF: 75 JOURNAL CODE: CZW. ISSN: 0009-3084., XP002087469 Ireland siehe Seite 11 - Seite 12 -----	1-15, 20-34

INTERNATIONALE RESEARCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/04612

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE 4408152 A	14-09-1995	CA 2144218 A	12-09-1995
		EP 0676414 A	11-10-1995
		JP 7274964 A	24-10-1995
		US 5817493 A	06-10-1998
EP 0443063 A	28-08-1991	KEINE	
WO 9720918 A	12-06-1997	AU 1148997 A	27-06-1997
		CA 2239686 A	12-06-1997
		EP 0866853 A	30-09-1998
DE 4413121 A	16-02-1995	KEINE	
WO 9115581 A	17-10-1991	AT 126535 T	15-09-1995
		AU 653152 B	22-09-1994
		AU 7741891 A	30-10-1991
		CA 2079802 A	06-10-1991
		DE 69112207 D	21-09-1995
		DE 69112207 T	28-03-1996
		EP 0527809 A	24-02-1993
		ES 2078518 T	16-12-1995
		US 5830650 A	03-11-1998
		US 5798208 A	25-08-1998